

Dr hab. Urszula Kosior-Korzecka, prof. Uczelni
Zakład Patofizjologii
Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin, 3.02.2023 r.

OCENA

**osiągnięcia naukowego oraz pozostałego dorobku naukowego, dydaktycznego,
organizacyjnego i popularyzatorskiego
dr n. wet. ALEKSANDRY PLISZCZAK-KRÓL
w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie weterynaria**

Recenzja została przygotowana w oparciu o decyzję Rady Doskonałości Naukowej (nr DRKN.Z4.400.30.2022) o powołaniu mnie w skład komisji habilitacyjnej jako recenzenta w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie weterynaria dr n. wet. Aleksandra Pliszcza-Król.

Podstawowe informacje o Habilitantce

Dr Aleksandra Pliszcza-Król w 1990 r. rozpoczęła pracę na stanowisku asystenta w Zakładzie Patofizjologii, Katedrze Anatomii Patologicznej, Patofizjologii i Weterynarii Sądowej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR we Wrocławiu. W kolejnych latach, pod opieką Pana prof. dr. hab. Stanisława Graczyka, zrealizowała projekt badawczy pt.: „Reaktywność limfocytów krwi kurcząt z doświadczalną dysfunkcją układu limfatycznego,.. Uzyskane wyniki stały się podstawą do nadania Jej przez Radę Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu, w maju 2000 r., stopnia doktora nauk weterynaryjnych. W czerwcu tego samego roku Kandydatka została zatrudniona w ww. Jednostce na stanowisku adiunkta. Aktualnie pracuje w Zakładzie Patofizjologii Katedry Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej.

Całkowity dorobek naukowy Habilitantki (1996-2021 r.), obejmuje 16 prac naukowych w czasopismach z listy JCR o łącznej liczbie punktów MNiSW/ MEiN wynoszącej 611 i sumarycznym IF=31,857 (dane na podstawie pozycji przedstawionych w „Autoreferacie”, Załącznik 4, str. 1-4; natomiast wg „Analizy bibliometrycznej dorobku naukowego” wykonanej przez BG UP we Wrocławiu: 571 pkt., IF=27,859) oraz 21 publikacji naukowych w czasopismach innych, niż znajdujące się w bazie JCR (110 pkt. MNiSW na podstawie pozycji przedstawionych w „Autoreferacie”, Załącznik 4, str. 2, 4-7; natomiast wg „Analizy bibliometrycznej dorobku naukowego”: 22 publikacje, 109 pkt.). Kandydatka jest współautorką rozdziału w monografii oraz 63 komunikatów kongresowych i konferencyjnych (na podstawie pozycji przedstawionych w „Autoreferacie”, Załącznik 4, str. 9-17; natomiast wg dołączonego zaświadczenia z Biblioteki: 67). Dwadzieścia spośród nich zostało przedstawionych na konferencjach międzynarodowych. Powyższy dorobek przekłada się łącznie na 721 pkt. MNiSW/ MNiE (wg „Analizy bibliometrycznej dorobku naukowego” na 680 pkt.). Liczba cytowań publikacji Habilitantki wg bazy Web

of Science Core Collection na dzień 7.03.2022 r. wynosiła 109 (bez autocytowań - 97), natomiast indeks Hirscha - 5.

Ocena osiągnięcia naukowego

Dr Aleksandra Pliszczyk-Król, jako osiągnięcie naukowe, wymienione w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 r., poz. 574 ze zm.), wskazała cykl powiązanych tematycznie oryginalnych prac naukowych pt.: „*Analiza parametrów hemostazy u zwierząt zdrowych i w wybranych stanach patologicznych*”.

Cykl ten składa się z trzech publikacji:

1. **Pliszczyk-Król A.**, Rząsa A., Gemra M., Król J., Łuczak G., Zyzak A., Zalewski D., Iwaszko-Simonik A., Graczyk S.: *Age-related changes of platelet and plasma coagulation parameters in young pigs*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigations**, 2016, 28 (5), 561-567 (<https://doi.org/10.1177/1040638716658928>, **MNiSW₂₀₁₆=30 pkt.; IF₂₀₁₆=0,925**)
2. **Pliszczyk-Król A.**, Gemra M., Kozdrowski R., Zalewski D., Iwaszko A.: *Involvement of hemostasis in pathophysiology of RAO in horses*. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 2020, 230 (<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2020.110128>, **MEiN₂₀₂₀ = 70 pkt.; IF₂₀₂₀=2,046**)
3. **Pliszczyk-Król A.**, Kielbowicz Z., Król J., Antończyk A., Gemra M., Skrzypczak P., Prządka P., Zalewski D., Bieżyński J., Nicpoń J.: *Parameters of hemostasis in sheep implanted with composite scaffold settled by stimulated mesenchymal stem cells – evaluation of the animal model*. **Materials** 2021, 14 (22), 6934 (<https://doi.org/10.3390/ma14226934>, **MEiN₂₀₂₁ = 140 pkt.; IF₂₀₂₁=3,623**)

Suma punktów (wg listy czasopism punktowanych MNiSW/ MEiN) za ww. prace, zgodnie z rokiem ich opublikowania, wynosi 240, łączny IF – 6,594. Artykuły ukazały się w znaczących czasopismach (punktacja poszczególnych prac mieści się co prawda w zakresie 30 - 140 pkt. (śr. 80 pkt.), jednakże *Journal of Veterinary Diagnostic Investigations* (poz. nr 1) aktualnie, po zmianie zasad punktowania czasopism, przypisanych ma 100 pkt.). Wartości IF czasopism, w których zamieszczone są prace plasują się w zakresie 0,925– 3,623 (śr. 2,198). Rozpiętość dat publikacji ww. artykułów jest, niestety, bardzo duża. Pierwszy z nich ukazał się już 7 lat temu, ostatni, trzeci - dwa lata temu. Należy jednak podkreślić, że udział Habilitantki w powstawaniu wszystkich ww. publikacji jest znaczący (65-80%). Obejmuje opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie metodyki, udział w wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu oraz dyskusji z recenzentami. Warto zaznaczyć, że w przypadku każdej z prac Kandydatka jest pierwszym i korespondencyjnym autorem. Nie bez znaczenia jest również fakt, że dwie publikacje powstały w ramach realizacji projektów badawczych finansowanych, odpowiednio, przez Ministra Nauki Szkolnictwa Wyższego (pozycja nr 1, nr grantu: NN311265038) oraz Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (pozycja nr 3, nr grantu: STRATEGMED3/306888/3/NCBR/2017). Ponadto, praca nr 2 została wykonana we współpracy z Tiermedizinisches Zentrum für Chirurgie

und Diagnostik (Wiedeń, Austria) oraz Wydziałem Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Zaburzenia procesu hemostazy, ze względu na dynamikę przebiegu odpowiedzialnych za nie mechanizmów, polietiologiczny charakter oraz wielokierunkowość patogenezy stanowią znaczący problem w medycynie weterynaryjnej. Poza uwarunkowanymi genetycznie skazami krwotocznymi związanymi z nieprawidłowym przebiegiem procesów warunkujących hemostazę pierwotną (np. choroba von Willebrandta) i wtórną (np. hemofilie) objawiającymi się m.in. niedoborem osoczowych czynników krzepnięcia i nadmiernym krwawieniem, często diagnozowane są zaburzenia wtórne, stanowiące konsekwencje innych jednostek chorobowych (w tym chorób nowotworowych, hematologicznych, autoimmunologicznych, neurologicznych, metabolicznych i powikłań procesów rozrodczych) lub podjętego postępowania terapeutycznego, takie jak DIC czy małopłytkowość centralna. Zaburzenia te w związku z towarzyszącą im utratą krwi bądź nadmiernym pobudzeniem procesu krzepnięcia skutkują ischemią tkanek i narządów lub problemami o charakterze zakrzepowo-zatorowym, które, zwłaszcza jeśli dotyczą *atria mortis*, mogą przyczynić się nie tylko do wydłużenia okresu terapii i zdrowienia, ale również stać się powodem nagłej śmierci pacjenta. Warto podkreślić, że zaburzenia hemostazy u zwierząt stwierdzone są nie tylko w przebiegu procesów patologicznych, ale również w czasie intensywnego wzrostu organizmu, czy dojrzewania płciowego. Stąd, podjęcie przez Habilitantkę próby ustalenia profilu zmian wartości parametrów charakteryzujących zaburzenia hemostazy w wybranych stanach fizjologicznych i patologicznych, mogące stanowić podstawę opracowania procedur natychmiastowego postępowania terapeutycznego w stanach zagrożenia życia zwierząt, jest przedsięwzięciem w pełni uzasadnionym oraz cennym, zarówno w aspekcie poznawczym, jak i potencjalnie aplikacyjnym.

Celem badań, których wyniki stanowią osiągnięcie Habilitantki, była analiza parametrów hemostazy u zwierząt zdrowych oraz w przypadku różnych procesów patologicznych, w aspekcie wykorzystania ich w diagnostyce, terapii i monitorowaniu przebiegu chorób. Kolejnym zadaniem, jakie wytyczyła sobie Kandydatka było poznanie procesów hemostazy u gatunków zwierząt stanowiących modele doświadczalne w badaniach z zakresu medycyny regeneracyjnej i transplantacyjnej oraz chirurgii i kardiologii człowieka, aby w przyszłości udoskonalić ocenę potencjalnego ryzyka związanego ze specjalistycznymi zabiegami i procedurami medycznymi. Ponadto, celem dr A. Pliszczak-Król było opracowanie ustandaryzowanych metod diagnostycznych w obszarze koagulologii weterynaryjnej przy zastosowaniu dostępnej aparatury oraz materiałów i odczynników używanych w medycynie ludzkiej.

W badaniach stanowiących podstawę **pierwszej publikacji** Habilitantka skupiła się na ocenie zmian parametrów hemostazy płytkowej i osoczowej w okresie od urodzenia do ukończenia 24 tygodnia życia u zdrowych świń będących potencjalnym modelem doświadczalnym w badaniach z zakresu ludzkiej medycyny regeneracyjnej i transplantacyjnej. Kandydatka postanowiła również określić, czy wszystkie komponenty hemostazy uzyskują pełną aktywność i sprawność w tym samym czasie oraz przeanalizować zależności pomiędzy mechanizmami krzepnięcia i zmianami zachodzącymi w organizmach zwierząt w okresie wzrostu i dojrzewania. Habilitantka zwróciła uwagę na możliwość występowania zaburzeń procesów homeostazy w efekcie obserwowanego u świń intensywnego wzrostu i przyspieszonego dojrzewania płciowego, wskazując, że niektóre rasy

osiągają dojrzałość płciową już w 9-15 tygodniu życia (masa ich ciała może wzrosnąć w tym okresie około 80 razy, a masa wątroby i śledziony, odpowiednio 50 i 117 razy).

Analizie poddano standardowe parametry pozwalające na ocenę hemostazy pierwotnej (ogólna liczba płytek krwi, średnia objętość płytki, odsetek płytek olbrzymich) i wtórnej (czas protrombinowy, czas częściowej tromboplastyny po aktywacji, czas trombinowy, stężenie fibrynogenu) u 50 zdrowych świń obu płci (25 loszek i 25 knurków, Wielka Biała Polska x Wielka Biała Zwiśloucha). Krew do badań pobierana była w 2-gim dniu życia, a następnie jeszcze 9-krotnie w okresie od 2-go do 24-go tygodnia życia. W celu wyznaczenia zakresów referencyjnych badanych parametrów oraz na potrzeby walidacji i kalibracji analizatora hematologicznego i koagulometru, ww. parametry oznaczono również w materiale pobranym od 40 zdrowych loch w wieku 12 miesięcy.

Najważniejsze, oryginalne osiągnięcia Pani dr Aleksandry PliszczaK-Król w przedstawionym powyżej zakresie:

- zaprezentowane przez Habilitantkę dane dotyczące parametrów hemostazy pierwotnej i wtórnej, mimo, iż zostały uzyskane przy wykorzystaniu standardowej metodyki, stanowią pierwsze tego typu kompleksowe opracowanie mające na celu analizę dojrzewania procesów krzepnięcia w czasie rozwoju osobniczego u świni domowej (Wielka Białą Polska x Polska Biała Zwiśloucha). Co istotne, wyniki otrzymano z wykorzystaniem reprezentatywnej grupy zwierząt obu płci ($n= 2 \times 25$) wybranych losowo z kilkunastu miotów. Kandydatka wykazała różnice w tempie dojrzewania poszczególnych składowych hemostazy, sugerując ich powiązanie z czasem rozwoju szpiku kostnego i wątroby, czyli odpowiednio, miejsc powstawania i dojrzewania płytek krwi oraz syntezy białek uczestniczących w procesie krzepnięcia. Stwierdziła, że mechanizmy hemostazy wtórnej wymagają podczas rozwoju osobniczego dłuższego czasu do osiągnięcia stabilizacji, podczas gdy parametry płytkowe osiągają wartości typowe dla osobników dorosłych we wczesnym okresie życia postnatalnego (4-6 tydzień).

Uwagi:

- Kandydatka, dokonując oceny sprawności szlaku wewnątrzpochodnego i toru wspólnego krzepnięcia, stwierdziła m.in. znacząco wyższe, niż obserwowano dotychczas u świń, wartości czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT) u prosiąt w wieku 10 tygodni, a także znaczące fluktuacje wartości aPTT nawet do 18 tygodnia życia. Autorka sugeruje, że może mieć to duże znaczenie praktyczne, jednocześnie nie podejmując próby pogłębienia badań, w tym analizy kolejnych parametrów hemostazy wtórnej, od których zależny jest aPTT, aby wyjaśnić przyczyny stwierdzonego, istotnego wzrostu wartości tego parametru (również w porównaniu do wartości uzyskanych przez innych badaczy u świń ras miniaturowych). Z pewnością uzyskane wyniki byłyby jeszcze bardziej wartościowe, gdyby dokonano chociażby korelacji wartości aPTT i pozostałych rozpatrywanych składowych hemostazy wtórnej z wybranymi metabolicznymi wyznacznikami wzrostu i dojrzewania prosiąt. Analizy te mogłyby dostarczyć istotnych danych umożliwiających interpretację wyników uzyskanych przez Habilitantkę. Przypuszczam jednak, że nie było podyktowane brakiem idei, ale wszechobecnymi ograniczeniami finansowo-czasowo-proceduralnymi;

- dlaczego referencyjne wartości parametrów hemostazy pierwotnej i wtórnej uzyskano wyłącznie z wykorzystaniem krwi dorosłych loch, podczas gdy badaniami właściwymi objęte były prosięta obu płci?

Dr Aleksandra Pliszcak-Król, uwzględniając fakt, że procesy hemostazy, które w warunkach fizjologicznych pełnią funkcje ochronne i naprawcze mogą ulegać aktywacji w przebiegu procesów patologicznych przebiegających z udziałem procesu zapalenia w układzie oddechowym, postanowiła poddać ocenie udział mechanizmów krzepnięcia i fibrynolizy w patogenezie nawracającej obturacyjnej choroby płuc (RAO) u koni. Stało się to podstawą przygotowania **drugiej pracy wchodzącej w skład cyklu**.

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem 20 koni obu płci przydzielonych do dwu podobnych pod względem struktury wiekowej, masy ciała i płci grup: R – ze zdiagnozowaną aktywną formą RAO (n=10) i C – kontrolnej (n=10). Przed rozpoczęciem badań, celem zaostrożenia przebiegu RAO, konie przez 48 godz. utrzymywane były w warunkach podwyższonej ekspozycji na alergeny wziewne. Po tym czasie jednorazowo pobrano krew z żyły szyjnej zewnętrznej do badań hematologicznych, gazometrycznych, biochemicznych i do oznaczeń parametrów hemostazy. Kandydatka poddała analizie czas protrombinowy, czas częściowej tromboplastyny po aktywacji, czas trombinowy, stężenie fibrynogenu i D-dimerów oraz aktywność aktywatorów (czynniki II - XII) i inhibitorów krzepnięcia (antytrombina i białko C). W celu kalibracji i walidacji koagulometru oraz uzyskania zakresu wartości referencyjnych badanych parametrów takie same oznaczenia wykonano u dodatkowej grupy zdrowych koni obu płci, w tym samym przedziale wiekowym i o podobnej masie ciała. Zwierzęta te, oczywiście, nie były poddawane działaniu alergenów.

Najważniejsze, oryginalne osiągnięcia Pani dr Aleksandy Pliszcak-Król w przedstawionym powyżej zakresie:

- na podstawie stwierdzonych zmian wartości badanych parametrów, Kandydatka potwierdziła udział procesów krzepnięcia i fibrynolizy w patogenezie nawracającej choroby obturacyjnej płuc u zwierząt tego gatunku. Wykazała, że procesy krzepnięcia i fibrynolizy w przebiegu RAO u badanych koni pozostawały pod kontrolą wciąż wydajnych i aktywnych mechanizmów hemostazy ogólnej;

- Habilitantka wykazała, że ekspozycja na alergeny wziewne powoduje, co prawda, wydłużenie aPTT zarówno u zdrowych, jak i u chorych zwierząt, wartość ta jest jednak znacząco wyższa w grupie koni obciążonych RAO. Jednocześnie nie stwierdziła różnic w wartościach PT i TT. Według Kandydatki znaczne wydłużenie aPTT u koni z RAO przy niezmiennych wartościach PT i TT wskazuje na możliwość zaburzeń w fazie amplifikacji krzepnięcia u tych zwierząt;

- Kandydatka stwierdziła u koni z RAO zmiany wskazujące na zaburzenia hemostazy spełniające kryteria rozlanego śródnaczyniowego procesu krzepnięcia (DIC), w tym trombocytopenię, wydłużenie aPTT, obniżenie aktywności antytrombiny, wzrost stężenia D-dimerów). Opierając się jednak na braku typowych dla DIC objawów klinicznych oraz nieobecności charakterystycznych zmian parametrów hemostazy (brak wydłużenia czasu protrombinowego, brak spadku stężenia fibrynogenu), uznała, że stwierdzone przez Nią zmiany wartości parametrów hemostazy u koni z RAO wskazują raczej na silną odpowiedź w formie procesu zapalenia, a nie na inicjację rozlanego śródnaczyniowego procesu krzepnięcia.

Uwagi:

- ze względu na możliwe, potencjalne różnice w stopniu zaawansowania patogenezy RAO, różnice osobnicze w odpowiedzi na kontakt z alergenami (stopień uprzedniego narażenia na alergeny, typy tych alergenów oraz zakres ich podobieństwa do tych, na które konie aktualnie były eksponowane), jak również te uwarunkowane wiekiem i w pewnym stopniu podłożem metaboliczno-hormonalnym związanym z płcią, uzyskane przez Kandydatkę wyniki byłyby jeszcze bardziej wartościowe, gdyby krew do badań pobrano nie jednorazowo, ale kilkakrotnie w ciągu kolejnych 48 godzin.

W trzeciej publikacji Pani dr Aleksandra Pliszczak-Król, we współpracy z Katedrą i Kliniką Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu, poddała analizie parametry hemostazy osoczowej i fibrynolizy u owiec po implantacji skafoldu kompozytowego zasiedlonego komórkami mezenchymalnymi szpiku kostnego (BM-MSC) stymulowanymi FGF-2 (czynnikiem wzrostu fibroblastów 2) i BMP-2 (białkiem morfogenetycznym kości 2). Materiał do badań pozyskano od 9 owiec rasy Merynos przed i po (1 godz., 1, 3, 7 dni) ww. zabiegu. Określono czas protrombinowy, aPTT, stężenie fibrynogenu i D-dimerów, a także aktywność wybranych aktywatorów (czynników II-XII) i inhibitorów krzepnięcia (antytrombiny i białka C). W celu kalibracji i walidacji koagulometru oraz uzyskania zakresu wartości referencyjnych badanych parametrów, takie same oznaczenia wykonano u dodatkowej grupy zdrowych owiec w tym samym przedziale wiekowym i o podobnej masie ciała (n=21).

Do najważniejszych, oryginalnych osiągnięć Pani dr Aleksandry Pliszczak-Król w tym zakresie należy zaliczyć wykazanie, że zastosowanie skafoldu kompozytowego, jak również przeprowadzony zabieg chirurgiczny, nie wiązały się z ryzykiem powikłań zakrzepowo-zatorowych lub krwawień spowodowanych zaburzeniami hemostazy u zwierząt doświadczalnych. Średnie wartości większości analizowanych parametrów krzepnięcia u owiec przed i po implantacji różniły się tylko nieznacznie, mieszcząc się w zakresie wartości referencyjnych. Jedynie w przypadku kilku parametrów wykryto wzrost aktywności lub stężenia przewyższający wartości fizjologiczne (czynnik X - niewielki wzrost aktywności w dniu 3 i 7, odpowiednio: 14,5% i 17%; czynniki V i XI - wzrost aktywności w dniu 3, odpowiednio o 46% i 170%; fibrynogen - wzrost stężenia w 3 dniu o 85%, dalszy wzrost do 7-go dnia po zabiegu). Różnice w wartościach czasów krzepnięcia (PT i aPTT) były nieznaczne i związane raczej z łagodnym procesem zapalenia wynikającym z naruszenia integralności tkanek po operacji, niż z zaburzeniami hemostazy. Podsumowując, wszystkie stwierdzone przez Kandydatkę zmiany wartości analizowanych parametrów nie miały wpływu na wydajność procesów hemostatycznych u zwierząt doświadczalnych.

Warto podkreślić, że publikacja nr 3 zawiera bogatą dokumentację w postaci zdjęć obrazujących m.in. procedurę implantacji skafoldu, obraz CT skafoldu umieszczonego w żuchwie owcy, czy fragment skafoldu zasiedlonego komórkami mezenchymalnymi szpiku kostnego (BM-MSC).

Podsumowując, przedstawiony do oceny cykl publikacji, wskazany jako osiągnięcie naukowe, w zasadzie jest spójny tematycznie. Kandydatka podjęła się analizy parametrów hemostazy u zwierząt zdrowych, w wybranych stanach patologicznych oraz po uszkodzeniu tkanek w efekcie zabiegu chirurgicznego i wprowadzenia implantu. Co prawda, w przypadku każdej publikacji wyniki zostały uzyskane przy wykorzystaniu tego samego zestawu

standardowo stosowanych metod laboratoryjnych, na bazie tego samego warsztatu metodycznego, jednak są to wyniki wartościowe nie tylko o znaczeniu poznawczym, ale także o charakterze przedklinicznym, z potencjałem ich wykorzystania w klinicznej praktyce weterynaryjnej w odniesieniu do trzech gatunków zwierząt (świni domowej, konia domowego i owcy domowej). Część uzyskanych przez Habilitantkę wyników niewątpliwie ma charakter pionierski, w związku z czym stanowi istotny wkład w rozwój dyscypliny weterynaria.

Należy docenić fakt, że dr A. Pliszczak-Król jako pierwsza dokonała kompleksowej analizy dojrzewania procesów krzepnięcia w czasie rozwoju osobniczego u świni domowej (Wielka Białą Polska x Polska Biała Zwistoucha) w okresie od urodzenia do 24-go tygodnia życia. Kandydatka wykazała różnice w tempie dojrzewania poszczególnych składowych hemostazy, sugerując ich powiązanie z czasem rozwoju szpiku kostnego i wątroby, czyli odpowiednio, miejsc powstawania i dojrzewania płytek krwi oraz syntezy białek uczestniczących w procesie krzepnięcia. Habilitantka stwierdziła również, że mechanizmy hemostazy wtórnej wymagają podczas rozwoju osobniczego dłuższego czasu do osiągnięcia stabilizacji, podczas gdy parametry płytkowe osiągają wartości typowe dla osobników dorosłych we wczesnym okresie życia postnatalnego (4-6 tydzień). Na podstawie stwierdzonych zmian wartości badanych parametrów u koni z RAO, Kandydatka potwierdziła udział procesów krzepnięcia i fibrynolizy w patogenezie nawracającej choroby obturacyjnej płuc u zwierząt tego gatunku. Ponadto, Habilitantka stwierdziła u koni z RAO zmiany wskazujące na zaburzenia hemostazy spełniające kryteria rozsianego śródnaczyniowego procesu krzepnięcia (DIC), w tym trombocytopenię, wydłużenie aPTT, obniżenie aktywności antytrombiny, wzrost stężenia D-dimerów). Opierając się jednak na braku typowych dla DIC objawów klinicznych oraz nieobecności charakterystycznych zmian parametrów hemostazy (brak wydłużenia czasu protrombinowego, brak spadku stężenia fibrynogenu), uznała, że stwierdzone przez Nią zmiany wartości parametrów hemostazy u koni z RAO wskazują na silną odpowiedź w formie procesu zapalenia, a nie na inicjację rozsianego śródnaczyniowego procesu krzepnięcia.

Habilitantka, niestety, bardzo niefortunnie sformułowała w „Autoreferacie” wnioski podsumowujące osiągnięcie. Wszystkie prace wchodzące w skład cyklu dotyczą, co prawda, zmian parametrów hemostazy, ale u różnych gatunków zwierząt i w różnych okolicznościach zdrowia i choroby. W pierwszej publikacji parametry hemostazy oceniane były w warunkach fizjologicznych w pierwszym okresie życia postnatalnego świń, w drugiej – w przebiegu RAO, po dodatkowej 48-godzinnej ekspozycji koni na alergen, w trzeciej pracy – po uszkodzeniu tkanek w wyniku zabiegu chirurgicznego i wprowadzenia implantu do żuchwy owiec. Znacznie korzystniej byłoby, gdyby Habilitantka w podsumowaniu przedstawiła konkretne wnioski wynikające z każdej pracy wchodzącej w skład cyklu (*vide*: najważniejsze osiągnięcia Kandydatki wymienione przeze mnie podczas oceny kolejnych artykułów), a nie starała się powiązać ze sobą wszystkie trzy publikacje i dokonać porównania poszczególnych parametrów pomiędzy gatunkami zwierząt, z wykorzystaniem których prowadzone były badania. Np. wniosek nr 3 niewiele wnosi („Wartości parametrów hemostazy u poszczególnych gatunków zwierząt różnią się wśród badanych np. aPTT najkrótszy jest u owiec, najdłuższy u koni, aktywność białka C jest zdecydowanie niższa u owiec w porównaniu do koni”). Wniosek nr 4 jest chaotyczny, zawiera informacje wyrwane z kontekstu, a wnioski nr 1, 2, 5, 6 (podobnie, jak część wniosku nr 3: „Na wartości parametrów ma wpływ także wiek, płeć i status zdrowotny zwierząt”) są oczywiste i nie

powinny znaleźć się w podsumowaniu osiągnięcia (nr 6: „Zmiany parametrów określających mechanizmy hemostazy cechują się dużą dynamiką – mogą pojawiać się i zanikać w stosunkowo krótkim czasie, np. zmiany w zakresie czasów i aktywności czynników krzepnięcia u owiec po zabiegu implantacji).

Na szczęście, ocenie podlega osiągnięcie, a nie „Autoreferat”, a w publikacjach źródłowych wnioski zostały przedstawione w sposób prawidłowy.

Wyszczególnione powyżej osiągnięcia Habilitantki w pracy badawczej poświęconej analizie parametrów hemostazy u zwierząt zdrowych i w wybranych stanach patologicznych, pomimo przedstawionych powyżej uwag, stanowią w mojej opinii podstawę do pozytywnej oceny dzieła.

Ocena pozostałej aktywności naukowej

W okresie przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych, badania dr Aleksandry Pliszcak-Król dotyczyły głównie radialnej segmentacji jąder limfocytów u ptaków, wpływu centralnych i obwodowych narządów limfatycznych na humoralną i komórkową odpowiedź immunologiczną oraz etiologii najczęściej występujących chorób atopowych u psów. Efektem tej aktywności badawczej są 3 publikacje oryginalne w czasopismach spoza bazy JCR o łącznej punktacji MNiSW – 6. Udział Habilitantki w powstawaniu artykułów polegał głównie na pobieraniu materiału biologicznego, przeprowadzaniu analiz laboratoryjnych i badań hematologicznych, a w jednej z prac, również na opracowaniu koncepcji i metodyki badań oraz opracowaniu i interpretacji wyników. W tym czasie Habilitantka została współautorką 2 doniesień naukowych prezentowanych na konferencjach krajowych.

Po uzyskaniu stopnia doktora, aktywność naukowa Kandydatki miała charakter wielokierunkowy i dotyczyła m.in.: 1) radialnej segmentacji jąder limfocytów u ptaków; 2) reaktywności leukocytów krwi obwodowej u różnych gatunków zwierząt, modulowanej wpływem różnych warunków doświadczalnych; 3) wpływu centralnych i obwodowych narządów limfatycznych na humoralną i komórkową odpowiedź immunologiczną; 4) identyfikacji drobnoustrojów chorobotwórczych w wybranych stanach patologicznych u człowieka i u zwierząt; 5) mechanizmów hemostazy ogólnoustrojowej; 6) zastosowania testów skórnych w diagnostyce atopii u psów; 7) oceny wpływu emisji przemysłowych na parametry hematologiczne krwi bydła; 8) statusu oksydacyjno-antyoksydacyjnego u prosiąt.

Wymiernym efektem aktywności badawczej Kandydatki w okresie po uzyskaniu stopnia doktora (z wyłączeniem publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego) jest 13 prac oryginalnych w czasopismach znajdujących się w bazie JCR (371 pkt. MNiSW/ MNiE i IF=25,263; 331 pkt. i IF=21,265 MNiSW/ MNiE bez Sci. Rep. z 2019 r.; „Autoreferat”, Załącznik 4, str. 2-4, poz. 13 - Sci. Rep. z 2019 r. – 40 pkt. MNiSW, IF=3,998) oraz 18 publikacji w czasopismach innych, niż znajdujące się w bazie JCR (104 pkt. MNiSW). Niestety, jedynie w pięciu spośród powyższych prac Pani dr A. Pliszcak-Król była pierwszym autorem. Warto jednak podkreślić, że część publikacji ukazała się w znaczących, wysokopunktowanych czasopismach, takich jak Scientific Reports (IF₂₀₁₈=4,011, IF₂₀₁₉=3,998), Carbohydrate Polymers (IF₂₀₁₁=3,628), Journal of Animal Science and Biotechnology (IF₂₀₁₇=3,205), Veterinary Immunology and Immunopathology

(IF₂₀₁₈=1,846), czy Journal of Ethnopharmacology (IF₂₀₁₀=2,466). Habilitantka została również w tym okresie współautorką rozdziału w monografii oraz 61 komunikatów kongresowych (w tym 20 zaprezentowanych na konferencjach międzynarodowych). W dwudziestu spośród wszystkich doniesień, Kandydatka była pierwszym autorem. Dr Aleksandra Pliszcak-Król dwukrotnie poddawała konfrontacji wyniki swoich badań prezentując je ustnie podczas posiedzeń towarzystw naukowych (Wrocławskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików oraz Wrocławskiego Oddziału Polskiego towarzystwa Fizjologicznego).

Przedstawione dane wskazują na powiększenie dorobku przez Kandydatkę po uzyskaniu stopnia doktora. Daty publikacji poszczególnych prac świadczą o ciągłej aktywności badawczej i publikacyjnej Habilitantki. Mimo, iż Kandydatka nie jest pierwszym, ani korespondencyjnym współautorem większości tych publikacji, Jej udział w ich powstawaniu jest stosunkowo łatwy do wyodrębnienia, związany jest bowiem z doświadczeniem i umiejętnościami laboratoryjnymi, bez których prace te zapewne nie powstałyby.

Warto podkreślić, że powstanie niektórych spośród publikacji składających się na pozostały dorobek, wymagało od Habilitantki umiejętności nawiązywania współpracy, m.in. z Zakładem Chemii Medycznej i Mikrobiologii Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej (2008-2011) oraz Zakładem Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Wydziału Stomatologicznego Akademii Medycznej (obecnie: Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu (2008-2013). Zaowocowało to udziałem dr Aleksandry Pliszcak-Król w realizacji pięciu projektów badawczych finansowanych w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych m.in. ze środków Komitetu Badań Naukowych (2010-2014), grantu STRATEGMED (2017-2019), Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (2008-2015) oraz Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich ((2017-2019). W przypadku wszystkich projektów Kandydatka pełniła funkcję wykonawcy.

Podsumowując ocenę pozostałego dorobku naukowego Pani dr Aleksandry Pliszcak-Król, stwierdzam, że Habilitantka, spełnia wymagania stawiane w tym zakresie osobom ubiegającym się o stopień naukowy doktora habilitowanego ze względu na wzrost dorobku w okresie po uzyskaniu stopnia doktora, aktywny i wielokrotny udział w realizacji projektów badawczych oraz umiejętność nawiązywania współpracy na bazie własnych umiejętności i doświadczenia w pracy laboratoryjnej. Należy jednak, niestety, zaznaczyć, że liczba prac oryginalnych, w których Kandydatka jest pierwszym lub korespondencyjnym autorem, a tym samym twórcą koncepcji, jest niewielka.

Ocena aktywności dydaktycznej, organizacyjnej popularyzatorskiej oraz działalności w zakresie współpracy badawczo-naukowej

Dr Aleksandra Pliszcak-Król od początku aktywności zawodowej prowadzi działalność dydaktyczną. Od 1992 r. realizuje ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotu Patofizjologia dla studentów III roku weterynarii. Prowadziła również ćwiczenia w języku polskim i angielskim z zakresu „Ochrony zdrowia publicznego w stanach zagrożenia” („Public health protection in a state of disaster”. Od 2006 roku odpowiada za wykłady i ćwiczenia z modułu „Pathophysiology” dla zagranicznych studentów kierunku weterynaria. Jest autorem programu i/ lub koordynatorem czterech przedmiotów fakultatywnych realizowanych

na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu dla studentów polsko- i anglojęzycznych: „Podstawy hematologii weterynaryjnej”/ „Basis of veterinary hematology” (V rok, wykłady i ćwiczenia), „Szczegółowa patogeneza chorób”/ „Advanced pathogenesis of diseases” (IV rok, wykłady). W 2008 r. przeprowadziła także cykl zajęć nt.: „Zaburzeń hemostazy u zwierząt” dla specjalizacyjnego studium podyplomowego z zakresu Diagnostyki Laboratoryjnej na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu.

W roku akademickim 2006/2007 Habilitantka sprawowała opiekę naukową nad studentami kierunku weterynaria wykonującymi prace badawcze w ramach Studenckiego Koła Naukowego, w październiku 2012 r., natomiast, nad pochodzącym z zagranicy młodym pracownikiem nauki odbywającym staż w Zakładzie Patofizjologii Katedry Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej (na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu). Był to staż przyznany przez Rektorską Komisję ds. Stypendium im. Profesora Stanisława Tołpy UP we Wrocławiu.

Kandydatka uczestniczyła w organizacji studenckich wydarzeń naukowych, m.in. XX Międzynarodowej Konferencji Studenckich Kół Naukowych i XXXII Sejmiku SKN (Wrocław, 2015 r.), pełniąc funkcję członka Komisji Sekcji Nauk Podstawowych.

Habilitantka jest członkiem *Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych*, w którym pełniła/ pełni szereg funkcji (w tym członka Komisji Rewizyjnej i sekretarza Wrocławskiego Oddziału PTNW oraz członka Centralnej Komisji Rewizyjnej PTNW). Niestety, nie odbyła długoterminowego stażu naukowego. Deklaruje jednak realizację licznych kursów i szkoleń specjalizacyjnych, w tym z zakresu diagnostyki laboratoryjnej niedokrwistości i zespołów mieloplastycznych, diagnostyki laboratoryjnej ostrych i przewlekłych białaczek czy diagnostyki autoimmunologicznych chorób wątroby. Brak długoterminowego zagranicznego stażu naukowego w pewnym stopniu rekompensuje fakt międzynarodowej i krajowej współpracy badawczej ze znaczącymi ośrodkami naukowymi, czego odzwierciedleniem są m.in. wspólne publikacje oryginalne z pracownikami Tiermedizinisches Zentrum für Chirurgie und Diagnostik (Wiedeń, Austria), Wydziałem Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, Zakładem Chemii Medycznej i Mikrobiologii Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej oraz Zakładem Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Wydziału Stomatologicznego Akademii Medycznej (obecnie: Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu.

Efektom powyższej współpracy z pewnością jest również fakt, że redakcje czasopism zamieszczonych na liście JCR (BMC Veterinary Research, Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, Thrombosis and Haemostasis: Research) powierzyły Pani dr Aleksandrze Pliszcak-Król prace do recenzji. Zdarzeń tych nie było wiele (3), jednakże w połączeniu z faktem powołania Pani dr Pliszcak-Król na członka Komitetu Redakcyjnego czasopisma Thrombosis and Haemostasis: Research, świadczą one o pewnej Jej rozpoznawalności w międzynarodowym środowisku naukowym.

Habilitantka w okresie swojej aktywności zawodowej została czterokrotnie nagrodzona przez JM Rektora UP we Wrocławiu: trzykrotnie partycypowała w nagrodzie zespołowej I lub II stopnia za osiągnięcia naukowe, raz w nagrodzie zespołowej za osiągnięcia dydaktyczne. W 2012 r. została również wyróżniona dyplomem UP

we Wrocławiu za współautorstwo dwóch publikacji z zakresu genetyki bakterii i antybiotykoodporności, opublikowanych w roku poprzednim.

Kandydatka w latach 2004-2022 doskonaliła swoje umiejętności metodyczne, wielokrotnie uczestnicząc w dwunastu stosownych szkoleniach, kursach i seminariach. Dotyczyły one głównie metod z zakresu diagnostyki hematologicznej. Jako eksperymentator prowadzący doświadczenia z wykorzystaniem zwierząt, odbyła również szkolenia dla osób odpowiedzialnych za planowanie i wykonywanie procedur i doświadczeń, osób uśmiercających zwierzęta oraz dla osób sprawujących opiekę nad zwierzętami doświadczalnymi.

W ramach działalności organizacyjnej, Habilitantka uczestniczy w opracowaniu raportów samooceny na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej. Jest osobą odpowiedzialną za dobrostan zwierząt doświadczalnych podczas eksperymentów realizowanych w Zakładzie Patofizjologii, jak również za stronę merytoryczną i przeprowadzanie usług laboratoryjnych oferowanych przez ww. Jednostkę. Kandydatka, współpracując w tym zakresie z Instytutem Konfucjusza przy UW, organizuje międzywydziałowe zajęcia nauki języka chińskiego dla pracowników badawczo-dydaktycznych i administracyjnych UP we Wrocławiu.

Jako specjalista, dr Aleksandra Pliszcak-Król wykonuje również badania usługowe dla lecznic, gabinetów weterynaryjnych i hodowców zwierząt w zakresie analizy parametrów hematologicznych, parametrów biochemicznych osocza oraz w zakresie koagulologii u wielu gatunków ssaków, ptaków, gadów i płazów. Udziela również konsultacji dotyczących interpretacji wyników przeprowadzonych badań oraz możliwości ich wykorzystania.

Podsumowując, nieco słabszą stroną dorobku Habilitantki, w zakresie omawianych działalności, jest niewielka liczba publikacji, zwłaszcza z listy JCR (poza, oczywiście, pracami wchodzącymi w skład cyklu), w których jest Ona pierwszym współautorem oraz brak zagranicznego stażu naukowego. Jednakże biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną prac, których Kandydatka jest współautorem, światowy zasięg czasopism, w których zostały one opublikowane, aktywność w zakresie realizacji projektów badawczych finansowanych ze źródeł zewnętrznych oraz niezbyt szeroką, ale efektywną i udokumentowaną publikacyjnie, współpracę z przedstawicielami zagranicznych i krajowych ośrodków naukowych, należy pozytywnie ocenić pozostały dorobek Kandydatki.

Podsumowanie

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe dr Aleksandry Pliszcak-Król jest, w mojej opinii, wartościowe merytorycznie, w pewnym zakresie posiada charakter pionierski i potencjalnie aplikacyjny, m.in. w odniesieniu do przeprowadzonej przez Habilitantkę kompleksowej analizy dojrzewania procesów krzepnięcia w czasie rozwoju osobniczego u świni domowej (Wielka Biała Polska x Polska Biała Zwisłoucha) w okresie od urodzenia do 24-go tygodnia życia. Kandydatka wykazała różnice w tempie dojrzewania poszczególnych składowych hemostazy, sugerując ich powiązanie z czasem rozwoju szpiku kostnego i wątroby. Habilitantka stwierdziła również, że mechanizmy hemostazy wtórnej wymagają podczas rozwoju osobniczego dłuższego czasu do osiągnięcia stabilizacji, podczas gdy parametry płytkowe osiągają wartości typowe dla osobników dorosłych we wczesnym okresie życia postnatalnego (4-6 tydzień). Na podstawie stwierdzonych zmian wartości badanych parametrów u koni z RAO, Kandydatka dowiodła udziału procesów krzepnięcia

i fibrynolizy w patogenezie nawracającej choroby obturacyjnej płuc u zwierząt tego gatunku. Ponadto, Habilitantka stwierdziła u koni z RAO zmiany wskazujące na zaburzenia hemostazy spełniające kryteria rozsianego śródnaczyniowego procesu krzepnięcia (DIC), w tym trombocytopenię, wydłużenie aPTT, obniżenie aktywności antytrombiny, wzrost stężenia D-dimerów). Opierając się jednak na braku typowych dla DIC objawów klinicznych oraz nieobecności charakterystycznych zmian parametrów hemostazy (brak wydłużenia czasu protrombinowego, brak spadku stężenia fibrynogenu), uznała, że stwierdzone przez Nią zmiany wartości parametrów hemostazy u koni z RAO wskazują na silną odpowiedź w formie procesu zapalenia, a nie na inicjację rozsianego śródnaczyniowego procesu krzepnięcia.

Wyszczególnione powyżej wyniki badań Kandydatki niewątpliwie stanowią znaczący wkład w rozwój dyscypliny weterynaria.

Do słabszych stron dorobku Pani dr Aleksandry Pliszczak-Król należy niewielka liczba publikacji (poza, oczywiście, pracami wchodzącymi w skład jednotematycznego cyklu), w których jest Ona pierwszym współautorem oraz brak długoterminowego zagranicznego stażu naukowego. Jednakże biorąc pod uwagę znaczącą wartość merytoryczną prac, których Kandydatka jest współtwórcą, światowy zasięg czasopism, w których zostały one opublikowane, wielokierunkowy charakter realizowanych badań, udział w realizacji projektów badawczych finansowanych ze źródeł zewnętrznych oraz efektywną, udokumentowaną publikacyjnie współpracę z przedstawicielami zagranicznych i krajowych ośrodków naukowych, należy pozytywnie ocenić Jej pozostały dorobek.

Wniosek końcowy

Podsumowując powyższą ocenę stwierdzam, że Pani dr Aleksandra Pliszczak-Król wykazuje się aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, a Jej osiągnięcie naukowe spełnia kryteria określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 r., poz. 574 ze zm.), co stanowi podstawę do nadania Kandydatce stopnia naukowego doktora habilitowanego w dyscyplinie weterynaria.

KIEROWNIK
Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych
Pliszczak-Król
Prof. dr hab. Urszula Kosior-Korzecka, prof. uczelni