

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
DZIEKANAT WYDZIAŁU  
MEDYCYN WETERYNARYJNEJ

28 -07- 2023

I. dz.....ZaI.....  
znak sprawy: .....

Lublin, 17 lipca 2023 r.

## RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. wet. Pawła Stefanowicza, wykonanej w Katedrze Biostruktury i Fiziologii Zwierząt, UP we Wrocławiu

Tytuł pracy: „*Izolacja, hodowla i charakterystyka mezenchymalnych komórek macierzystych izolowanych z rąbka rogówki i ich potencjalne zastosowanie w okulistyce weterynaryjnej*”

Promotor: *Prof. dr hab. Maciej Janeczek*

Promotor pomocniczy: *dr Tomasz Gębarowski*

Podstawę formalną recenzji stanowi pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Weterynaria, UP we Wrocławiu z dnia 30 maja 2023 roku, w sprawie powołania recenzentów rozprawy doktorskiej lek. wet. Pawła Stefanowicza.

W przedłożonej do oceny pracy doktorskiej lek. wet. Paweł Stefanowicz zajął się problemem naukowym polegającym na pozyskaniu, izolacji i hodowli autologicznych komórek macierzystych z rąbka rogówki psów i kotów. W naturalnej konsekwencji zagadnienie to zostało poszerzone o wstępne badanie eksperymentalne oceniające skuteczność izolowanych komórek macierzystych w przypadku sekwestracji rogówki kota. W świetle epidemiologicznym, schorzenia gałki ocznej u psów i kotów są jednymi z najczęściej występujących co wymaga stosowania coraz to nowych leków, ale także i nowatorskiego podejścia, np. poprzez stosowanie terapii opierających się o elementy komórkowe (komórki macierzyste). Niewątpliwie, dość pomocna w tym zakresie jest wiedza z zakresu okulistyki ludzi, jednak implementacja stosowanych u ludzi terapii i procedur nie może być bezmyślna i nie uwzględniać różnic gatunkowych. W świetle nakreślonych powyżej informacji uznaję, że problem naukowy, którego rozwiązania podjął się Doktorant zawiera się całościowo w dyscyplinie naukowej weterynaria. Jest on naukowo ciekawie sformułowany, aktualny klinicznie i w szerokim ujęciu wiąże nauki podstawowe z praktyką weterynaryjną. Autor przygotowując pracę doktorską próbował zachować układ typowy dla tego typu opracowań. Pisząc próbował bo nie do końca mu to wyszło, co niestety uwidacznia brak akademickiego obycia Doktoranta. We wstępie Doktorant syntetycznie przedstawia podstawowe dane dotyczące budowy rogówki u zwierząt,



jej roli i funkcjonowania oraz typowych schorzeń rogówki spotykanych w praktyce lekarsko-weterynaryjnej. Osobne omówienie autor poświęcił roli komórek macierzystych oraz technik ich wykorzystania w leczeniu ubytków rogówki. Należy podkreślić, że mimo pewnych potknięć rozdział Wstęp został przygotowany w miarę solidnie, co dowodzi dużej wiedzy Doktoranta i swobodnego poruszania się w obrębie poruszanej problematyki. Trzy syntetyczne cele pracy są logiczne i wynikają z podjętego problemu naukowego. Dobór narzędzi do realizacji założonych celów badawczych też jest właściwy i opiera się na aktualnych technikach morfologicznych, hodowli komórkowych i inżynierii komórkowej. Niestety opis zastosowanych procedur eksperymentalnych jest mało intuicyjny i dość trudny w odbiorze, czasami napisany w sposób popularno-naukowy i zdecydowanie wymaga korekty, gdyby autor zechciał oddać manuskrypt do druku. Dla przykładu, opis izolacji komórek przedstawiony w punktach (str. 74) nie jest wystarczająco informacyjny (taki układ zawiera sporo niejasności), a wymienianie stosowanych odczynników w postaci listy wnosi sporo chaosu. Prezentacja uzyskanych wyników jest zasadniczo w miarę przejrzysta, wspomagana tabelami i wykresami, a nawet dokumentacją fotograficzną. Niestety czasami opis danych jest dość chaotyczny (autor powiela informacje już raz przedstawione w rozdziale MM) i zawiera uproszczenia (np. badania morfologiczne, str. 90), co w szerszej perspektywie wymaga uporządkowania. Rozdział Dyskusja jest momentami dla Autora sporym wyzwaniem, bowiem nie do końca udało mu się zaprezentować swoje wyniki w świetle osiągnięć innych badaczy. Fragmenty dyskusji mogłyby się z powodzeniem znaleźć się i we wstępie. Nie do końca rozumiem po co Autor charakteryzuje komórki macierzyste wszystkich typów skoro jego praca dotyczyła rogówki (jak dla mnie dyskusja z powodzeniem mogłaby się zacząć od strony 131). Niemniej jednak, pozostałe fragmenty dyskusji rzucają światło na obecne poglądy i uwarunkowania związane z terapią komórkami macierzystymi, w tym z rąbka rogówki. Dyskusja poparta jest dobrze dobraną i obszerną (ponad 300 pozycji) literaturą naukową w postaci głównie anglojęzycznych artykułów naukowych z listy JCR, które doskonale korelują z prowadzonymi badaniami i pomagają zrozumieć znacznie i możliwe mechanizmy leżące u podstaw tych badań. Rozprawę wieńczy 5 wniosków, które wskazują na samodzielne rozwiązanie postawionego problemu naukowego. Dodatkową formą zakończenia rozprawy są dwa wymagane z mocy Ustawy streszczenia: jedno w języku polskim oraz jedno w języku angielskim.

Niestety jak już nadmieniałem w tej recenzji, oceniana praca doktorska zawiera szereg niejasności i niedomówień, które z obowiązku przedstawiam w postaci uwag krytycznych.

1. (Str. 5) Rogówka nie jest tkanką, ale narządem zbudowanym z kilku tkanek.

2. (Str. 5) Biegun przedni gałki ocznej znajduje się na rogówce, ale nie stanowi go rogówka.
3. (Str. 5) Rozmiar rogówki nie może być ani okrągły, owalny, pionowy ani poziomy (to raczej kształt).
4. (Str. 5) Jakich gatunków dotyczą się dane odnoszące się do grubości rogówki. Brakuje stosownego piśmiennictwa.
5. (Str. 7) Samo unerwienie aferentne (czuciowe) rogówki nie pozwala na „uniknięcie poważnych urazów”.
6. (Str. 7) Niejasne jest o jakim charakterze zaopatrzenie nerwowe mowa w odniesieniu do nerwów rzęskowych.
7. (Str. 7) Autor używa kilku różnych terminów na określenie tej samej struktury: „rąbek rogówki”, „rąbek rogówkowy” bądź „rąbek”. Powoduje to ogromny chaos nomenklatury.
8. (Str. 8) Co oznaczają terminy „cienkie jądra” i „delikatne błony komórkowe”???
9. (Str. 8) Morfologicznie (histologicznie) tkanka bliznowata nie istnieje.
10. (Str. 9) Albo „milimetr kwadratowy” albo „mm<sup>2</sup>”
11. Ryciny numer 1, 2, 3 nie są autorstwa Doktoranta co wynika z przypisów w podpisach do rycin. Jednak brakuje w podpisach informacji czy wykorzystanie tych rycin odbyło się za zgodą autora/wydawnictwa (posiadającego prawa autorskie do utworu) czy na zasadzie wykorzystania utworów dostępnych w domenie publicznej lub na zasadach wolnej licencji.
12. MM (str. 74) Formaldehyd nie służy do przechowywania tkanek ale do ich utrwalania. Niejasne jej jak długo utrwalano tkanki, co ma kluczowe znaczenie dla jakości ich późniejszych barwień (w tym IHC).
13. MM (str. 74) Czy zatopienie w bloczki odbyło się z pominięciem etapu odwadniania?
14. MM (str. 74) PAS nie jest barwnikiem a metodą (reakcją). A więc „barwione ... metodą PAS”. Ponadto przy opisie wyników znajdują się sformułowania „reakcję PAS określono na +++” (str. 96). Nie wiadomo co to oznacza, bowiem autor nie przedstawił stosownej skali półilościowej.
15. MM (str. 74) Autor jak twierdzi dokonał porównań pożywek i metod izolacji, ale nie podał jakich kryteriów użył do celów porównawczych.
16. Ryciny w MM w dużym zakresie pokrywają się z tabelami (np. rycina 4 i tabela 6 w zasadzie zawierają te same elementy).
17. Niejasne jest co mają oznaczać symbole w rubryce ETAP No (tabela 6, 7 i 8)
18. MM (str. 83) Termin ekspresja jest zarezerwowany właściwie do genów. Ponieważ Autor ich nie badał należy go zmienić.
19. MM (str. 83, 84) Jaką procedurę kontrolną zastosowano do badania specyficzności przeciwciał

- pierwszorzędowych?
20. (str. 96) Raczej „wing-like” i skrzydłowe a nie „skrzydłowa”.
  21. (str. 96) „nabłonek był tu cieńszy” – tzn. o ile i w stosunku do czego? Trudno określić, bowiem Autor nie poparł tego twierdzenia danymi numerycznymi.
  22. (str. 101, str. 102) W tekście pracy pojawia się dwukrotnie tabela numer 12.
  23. (str. 114) Właściwie nie wiem jak mam ocenić immunoekspresję wybranych markerów. Brak strzałek, skali ilościowej, a skala milimetrowa jest zbyt mała do odczytania. Opisy do rycin powinny być autonomiczne i w sposób przejrzysty tłumaczyć co czytelnik obserwuje i ocenia.
  24. (Str. 115, str. 117) Rycina bez numeru i opisu.
  25. (str. 121) Jak rozumiem badanie eksperymentalne przeprowadzone na jednym kocie zostało wykonane za zgodą właściciela zwierzęcia. Nie jestem kompetentny do oceny od strony prawnej takiej procedury, ale niewątpliwie przepisy prawa warunkujące przeprowadzenie takiego eksperymentu powinny zostać przedstawione w rozdziale Materiał i Metody. Ponieważ zgoda ta stanowi integralną część doświadczenia powinna zostać załączona jako suplement rozprawy.
  26. (Str. 121) Obserwacja skuteczności terapii na jednym kocie może mieć tylko wartość pilotażową, ale nie naukową (dlatego też dyskusyjnym jest czy powinna się ona w ogóle znaleźć w pracy naukowej).
  27. (Str. 123) Kompletnie niezrozumiałym jest dlaczego opis metody statystycznej znajduje się w rozdziale Wyniki?
  28. (Str. 123.) Opis metod statystycznych jest całościowo do poprawy lub usunięcia. Czytając go w takiej formie dalej nie wiadomo jaki/e konkretnie test/y został/y użyty/e i jakie dane nim/nimi badano. Jak opisano odchylenie standardowe? Jakie przyjęto P? Pomimo opisu analizy statystycznej, na próżno szukać na wykresach czy w opisach danych, stwierdzonych istotności statystycznych (w ogóle nie ma danych statystycznych). To rodzi pytanie czy analizę statystyczną w ogóle wykonano? Być może opis statystyczny jest po prostu błędem edycyjnym?
  29. (str. 131) *ex vivo* powinno być pisane kursywą.
  30. (str. 133) Od tej strony rozprawy następuje zmiana formatu cytowania piśmiennictwa, co jest sporym pogorszeniem przejrzystości pracy i nie ma prawa znaleźć się w publikacji naukowej.
  31. (Str. 138) Nie do końca rozumiem jakie znaczenia ma rozdział „Kwestie etyczne” na końcu dyskusji? Po co to oczywiste stwierdzenie? Na marginesie należy bezwarunkowo poprawić „medycyny weterynarynarfyjnej”, bo to sformułowanie stawia w złym świetle nasz zawód.

## Konkluzja

Wspominane przeze mnie uwagi krytyczne dotyczą głównie formy prezentacji wyników i strony redakcyjnej pracy doktorskiej, natomiast nie wpływają na wartość i samodzielne rozwiązanie problemu naukowego. W konkluzji stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska odpowiada warunkom określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz.U. z 2023 r. poz. 742).

KIEROWNIK KATEDRY  
Anatomii i Histologii Zwierząt  
  
Prof. dr hab. Marcin Arciszewski