

Prof. dr hab. Andrzej Raś

Olsztyn, 16.08.23

Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

UW-M Olsztyn



Recenzja pracy doktorskiej

lek. wet. Łukasza Oktawca pt. „Wpływ kondycji ciała na sezonową aktywność jajników oraz stężenie leptyny we krwi u kłaczy rasy śląskiej”

1. **Podstawę formalną niniejszej recenzji** stanowi Uchwała Rady Dyscypliny Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, powierzająca pracę doktorską do oceny.

2. **Ogólna charakterystyka pracy**

Oceniana praca doktorska dotyczy wpływu kondycji na sezonową aktywność jajników oraz stężenia leptyny i greliny oraz korelacji między tymi hormonami, a kondycją ciała u kłaczy hodowlanych rasy śląskiej.

Przedstawiona do recenzji praca liczy 66 stron wydruku komputerowego, zawiera 14 rycin i 6 tabel. Składa się ona ze streszczenia w języku polskim i angielskim, wstępu zawierającego 4 podrozdziały, celu, opisu materiałów i metod, wyników przedstawionych głównie w formie tabel i rycin, dyskusji, wniosków, piśmiennictwa oraz wykazu ważniejszych skrótów.

3. **Problem naukowy, jego sformułowanie i aktualność podjętego zagadnienia naukowego**

Autor dysertacji podjął próbę zbadania wpływu stanu odżywienia, kondycji na rozpoczęcie aktywności jajników po zimowym anestrus u kłaczy śląskich. Próbował też znaleźć korelację między kondycją ciała, a stężeniem leptyny i greliny w aspekcie wystąpienia pierwszej rui w sezonie hodowlanym. Zjawisko inicjacji aktywności jajników po zimowym anestrus u kłaczy przypada na czas, gdy dni stają się dłuższe. Wraz z wydłużaniem się dnia świetlnego, pojawiają się pierwsze fale wzrostowe pęcherzyków, często nie kończące się owulacją.

Nie zawsze towarzyszą im też objawy rujowe. Rozpoczyna się wówczas tzw. wiosenny okres przejściowy, kiedy klacz wykazuje pierwsze prawidłowo przebiegające cykle rujowe, ale nie zawsze zakończone owulacją. Szczyt aktywności jajników ma miejsce w maju-czerwcu, a później we wrześniu-październiku. Układ rozrodczy klaczy „wycisza się” późną jesienią i zimą i wchodzi w anestrus sezonowe, kiedy to jajniki są zazwyczaj nieaktywne, macica atoniczna, a szyjka macicy zamknięta. Klacz jest samicą sezonowo-poliestralną, gdzie natężenie światła i długość dnia świetlnego odgrywają największą rolę w regularnym okazywaniu prawidłowych cykli płciowych. Mniejszą rolę odgrywają tu: temperatura, stan odżywienia, kondycja ciała, właściwości osobnicze itp. Mechanizm wpływu światła na inicjację cyklu rujowego u klaczy w literaturze jest dobrze opisany i udokumentowany, co pozwoliło wprowadzić tzw. terapię świetlną u klaczy pełnej krwi angielskiej i czystej krwi arabskiej, skutkującą wczesnym rozpoczęciem regularnych cykli płciowych już w lutym czy marcu. Niewiele danych w literaturze można znaleźć na temat wpływu kondycji ciała, poziomu leptyny i greliny i ich wzajemnych korelacji, na rozpoczęcie regularnych cykli rujowych po sezonie zimowego anestrus u klaczy hodowlanych. Autor recenzji stosował indukcję owulacji u klaczy wychudzonych, o dużym deficycie energetycznym, w złej kondycji i stwierdził słabą odpowiedź klaczy z deficytem energetycznym na farmakologiczną indukcję owulacji (Medycyna Weterynaryjna 2007, 63 (5), 578-580). Można przyjąć, że przed kwalifikacją klaczy do krycia lub inseminacji, zwłaszcza drogim nasieniem najlepszych ogierów, powinno się uwzględniać, oprócz stanu narządu rodnego, również kondycję i status energetyczny. Z obserwacji praktyki klinicznej recenzenta wynika również fakt, że klacze otłuszczone, zatuczone mają istotnie większą skłonność do ciężkich porodów, kończących się fetotomią lub cesarskim cięciem, niż klacze w optymalnej kondycji (Vet. Rec. 2014, 174, 407-410).

Wprowadzenie do programu kontroli rozrodu, oceny kondycji, stanu odżywienia, również za pomocą oznaczania leptyny i greliny zaproponowanej przez Doktoranta może podnieść efektywność wykazywania regularnych cykli płciowych i lepszą zapłodnialność klaczy hodowlanych. Brak jest tego typu badań opisywanych w kontekście wpływu kondycji ciała na rozpoczęcie regularnych cykli na początku sezonu hodowlanego. Z tych względów, badania podjęte przez Doktoranta na grupie klaczy rasy śląskiej uważam za w pełni aktualne i uzasadnione.

4. Cel rozprawy

Generalnym celem podjętych badań było określenie wpływu kondycji ciała na rozpoczęcie sezonu hodowlanego u klaczy rasy śląskiej, która została objęta programem zachowawczym rodzimych ras koni w ramach Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich.

Szczegółowe cele przedstawiały się następująco:

- określenie wpływu kondycji ciała na termin rozpoczęcia sezonu hodowlanego u klaczy rasy śląskiej tj. momentu uzyskania pierwszej prawidłowej rui w sezonie;
- określenie wpływu stężenia leptyny i greliny na termin uzyskania pierwszej rui w sezonie hodowlanym;
- określenie korelacji pomiędzy kondycją ciała a stężeniem leptyny i greliny w aspekcie terminu pierwszej rui w sezonie hodowlanym.

5. Ocena znajomości literatury dotyczącej problematyki badań

W obszernym wstępie (18 stron) Doktorant charakteryzuje specyfikę procesów rozrodczych u klaczy, zwracając uwagę na środowiskowe uwarunkowania przebiegu cyklu płciowego z uwzględnieniem żywienia i kondycji. Parametry oceny kondycji i otłuszczenia Doktorant przyjmuje za Hennecke i wsp., dokumentując to zdjęciami koni w różnych stopniach kondycji oraz schematem obszarów ciała, które podlegają wizualnej i palpacyjnej ocenie otłuszczenia. Wspomina też o możliwości wykorzystania badania ultrasonograficznego do pomiaru grubości tłuszczu w wyznaczonych miejscach ciała.

Szeroko opisuje wpływ żywienia na rozród klaczy, analizuje uwalnianie LH w rui u klaczy w różnych stopniach kondycji, wpływ otyłości na zapłodnialność oraz wpływ leptyny i greliny na metabolizm tkanki tłuszczowej i korelacji tych hormonów z kondycją ciała. Leptyna jest długo poszukiwanym wskaźnikiem stanu odżywienia, który umożliwia regulowanie procesów reprodukcyjnych u różnych gatunków zwierząt. U koni ten wpływ leptyny jest słabo poznany, stąd uzasadnione jest podjęcie tej tematyki w pracy doktorskiej przez Doktoranta. W dalszej części wstępu Doktorant charakteryzuje wpływ greliny na przyjmowanie pokarmu, na stan odżywienia, ale także na kontrolę bilansu energetycznego i funkcję gonad u różnych gatunków zwierząt, ale nie u koni. Również we wstępie Doktorant charakteryzuje konie rasy śląskiej, opisując historię tej rasy, pokrój i współczesne kierunki hodowli koni rasy śląskiej.

W dość szeroko napisanej dyskusji Doktorant konfrontuje uzyskane wyniki badań własnych z danymi z literatury, odnosząc się czasami również do obserwacji terenowych. Oba te rozdziały napisano w oparciu o bardzo liczne, aktualne, prawie wyłącznie anglojęzyczne piśmiennictwo, ale tylko w ok. 30% dotyczące koni.

6. Poprawność metodyczna oraz zakres rozwiązania zagadnienia naukowego

Materiał badawczy stanowiło 24 klacze rasy śląskiej, które na podstawie wywiadu, badania klinicznego, badania ginekologicznego z użyciem usg oraz oceny kondycji (BCS) zakwalifikowano do trzech grup badawczych:

- Grupa A (n = 10) – klacze w kondycji poniżej optymalnej $BCS \leq 4$
- Grupa B (n = 7) – klacze w kondycji optymalnej $BCS 4,5-5,5$
- Grupa C (n = 7) – klacze w kondycji powyżej optymalnej $BCS \geq 6$

Wszystkie klacze na początku doświadczenia (grudzień) były w anestrus sezonowym, co potwierdziło badanie ginekologiczne z użyciem usg. Od wszystkich klaczy biorących udział w doświadczeniu pobrano krew w celu uzyskania surowicy do późniejszej oceny stężenia leptyny i greliny. Badanie ginekologiczne z użyciem usg powtarzano u każdej klaczy co 10 dni. W momencie wzrostu pęcherzyka badanie wykonywano częściej, aby precyzyjnie określić wystąpienie pierwszej owulacji w sezonie rozrodczym. Po stwierdzeniu na jajniku ciała żółtego, pobierano krew w celu oznaczenia poziomu progesteronu. Progesteron oznaczano w surowicy metodą chemiluminescencji wzmocnionej enzymatycznie (test CLIA). Stężenie leptyny i greliny oznaczano metodą radioimmunometryczną z użyciem gotowych zestawów.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu komputerowego Statistica 13.1 dla systemu operacyjnego Windows 10. W celu zbadania założenia o normalności rozkładów wykonano test Shapiro-Wilka. W analizie statystycznej zastosowano również test Kruskala-Wallisa i test Dunna. Korelacje między zmiennymi sprawdzono za pomocą współczynnika korelacji liniowej Pearsona.

Klaczki z grupy B, o optymalnej kondycji, wykazały średnio po 57 dniach od początku doświadczenia prawidłowy cykl zakończony owulacją. Klaczki w słabszej kondycji (grupa A) potrzebowały średnio 120,5 dnia, a klaczki grupy C – 128 dni. Wykazano przy tym różnice statystycznie istotne między grupami A i B oraz B i C. Stężenia greliny i leptyny w poszczególnych grupach nie wykazywały różnic statystycznie istotnych. Wyniki stężenia progesteronu w

poszczególnych grupach wynosiły 14,6 ng/ml (gr. A), 19 ng/ml (gr. B) oraz 16,2 ng/ml (gr. C) i nie różniły się istotnie statystycznie. Doktorant wykazał istotną ujemną korelację stężenia greliny z BCS w grupie C z kondycją powyżej optymalnej.

Z przeprowadzonych badań wyprowadzono 3 wnioski, wynikające z części uzyskanych rezultatów.

7. Przydatność uzyskanych wyników w praktyce

Badania przeprowadzone przez Doktoranta na stosunkowo niewielkich grupach klaczy mają jednak istotne znaczenie naukowe i praktyczne. Terenowy lekarz weterynarii zajmujący się rozrodem klaczy powinien uwzględniać je w swojej praktyce, namawiając hodowców do utrzymywania klaczy hodowlanych w optymalnej kondycji, poprzez okresową kontrolę metabolizmu, wprowadzaniem badań biochemicznych i hormonalnych do programu kontroli rozrodu. Takie wspólne działanie zaowocuje zbilansowanym żywieniem klaczy zwłaszcza przed stanówką, warunkującym optymalną kondycję, szybsze wejście w sezon rozrodczy i lepszą zapłodnialność.

8. Uwagi polemiczne i dyskusyjne

- We wstępie, wśród czynników wpływających na rozród klaczy (1.3) z grupy egzogennych, należałoby wymienić je według znaczenia tzn. długość dnia świetlnego, temperatura, żywienie, kondycja (str. 12),
- W rozdziale „Materiał i metody” Doktorant podaje, że badania przeprowadzono na 24 klaczach rasy śląskiej, a na stronie 25 stwierdza, że wszystkie 27 klaczy miało fizjologiczny stan narządów płciowych,
- Ryc. 7 zawierająca obraz ultrasonograficzny ciała żółtego powinna być umieszczona w rozdziale „wyniki”, a ciało żółte wskazane strzałką lub wybrać bardziej wyraźne zdjęcie,
- W wynikach korelacji – brak wykresu przedstawiającego korelację między stężeniem leptyny a BCS (trzeci główny cel pracy),
- W „Dyskusji” na str. 43 jest „W tych przypadkach pęcherzyk owulacyjny ulegał atrezji – mała bez owulacji lub dochodziło do jego luteolizy”, powinno być: „W tych przypadkach pęcherzyk Graafa ulegał atrezji – zmniejszał się jego przekrój, grubiała ściana lub dochodziło do jego luteinizacji” – obraz takiego pęcherzyka można by zamieścić w części dokumentacyjnej pracy,

- Nie udało się Doktorantowi uniknąć błędów literowych, wyrażeniowych, a także wyrażen żargonowych np. stężenie leptyny w osoczu jest bezpośrednio związane z płaszczyzną żywienia (str. 15), transport glukozy po przewlekłym leczeniu leptyną...,
- W rozdziale Bibliografia, pracę Allena i wsp. zamieszczono dwukrotnie pod pozycją 2 i 114.

Mimo tych uwag pracę oceniam pozytywnie.

9. Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska lek. wet. Łukasza Oktawca odpowiada warunkom określonym w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.)

Biorąc powyższe pod uwagę, wnoszę o dopuszczenie lek. wet. Łukasza Oktawca do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Andrzej Raś
LEKARZ WETERYNARI
Specjalista Chorób Koni
i Rozrodu Zwierząt
10-752 Olsztyn, ul. Węgry 67
tel. 502 34 99 98

04698

Andrzej Raś