



Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Katedra Farmakologii i Toksykologii

10-718 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 13
tel. (089) 523 37 58

e-mail: mark@uwm.edu.pl

Olsztyn 12.02.2025

dr hab. Włodzimierz Markiewicz, prof. UW-M
Katedra Farmakologii i Toksykologii
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. wet. DOMINIKI SZADKOWSKIEJ

pt. „Wpływ wybranych ekstraktów oraz związków z *Cirsium palustre* (L.) Scop. (Asteraceae) na aktywność motoryczną izolowanych wycinków jelita świni”

Przedstawiona do recenzji praca doktorska została wykonana w Zakładzie Farmakologii i Toksykologii Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pod kierunkiem promotora dr hab. Marty Mendel, prof. SGGW.

Podstawą formalną przygotowania recenzji jest Uchwała Rady Dyscypliny Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, z dnia 19 listopada 2025r. nr 20/WET-2025/2026r. oraz pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Weterynarii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, dr hab. Tomasza Szadkowskiego, prof. SGGW z dnia 2 grudnia 2025 roku.

1. Ogólna charakterystyka rozprawy

Przedstawiona do oceny dysertacja Pani lek. wet. Dominiki Szadkowskiej została przygotowana w języku polskim i przedstawiona do recenzji w postaci wydruku na 148 stronach formatu A4. Układ pracy jest tradycyjny i zawiera: spis treści, streszczenie w języku

polskim i angielskim, listę użytych w pracy skrótów, wstęp, cel badań, materiały i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie wyników i wnioski oraz piśmiennictwo.

Rozprawę rozpoczynają dwie strony tytułowe. Kolejna strona to oświadczenie promotora i autora rozprawy doktorskiej. Natomiast strona 4 zawiera podziękowania. Spis treści rozprawy umieszczono na str. 5-6. Streszczenie w języku polskim jest przedstawione na str. 7-8, a streszczenie w języku angielskim na str. 9-10. Skróty użyte w treści rozprawy wykazano na str. 11-12. Na str. 13-43 manuskryptu można znaleźć obszerny wstęp w którym doktorantka poruszyła kilkanaście zagadnień tj. rośliny lecznicze w medycynie w tym weterynaryjnej, charakterystyka ostrożeńa błotnego (*Cirsium palustre*), zaburzenia czynnościowe przewodu pokarmowego oraz izolowane wycinki jelita świni jako model badawczy. Na str. 44 zostały wymienione cztery cele badań. Następnie, na str. 45-53 opisano materiały i metody wyodrębniając kilkanaście podrozdziałów dotyczących: materiału biologicznego pozyskanego od zwierząt do celów badawczych, materiału roślinnego wykorzystanego do badań, odczynników chemicznych i aparatury, przygotowania surowych wyciągów i frakcji, analizy fitochemicznej wyciągów i frakcji metodą LC-PDA-HRMS, pobrania i preparacji wycinków jelit, rejestracji aktywności motorycznej wycinków mięśniówki gładkiej, przebiegu doświadczenia, oceny wpływu wyciągów i frakcji pozyskanych z *C. palustre* na aktywność motoryczną mięśniówki okrężnej i podłużnej jelita czczego i okrężnicy świni, oceny wpływu wyciągów i frakcji pozyskanych z *C. palustre* na aktywność motoryczną mięśniówki okrężnej i podłużnej jelita czczego i okrężnicy świni oraz ocenę wpływu głównych flawonoidów pozyskanych z *C. palustre* na aktywność motoryczną mięśniówki okrężnej i podłużnej jelita czczego i okrężnicy świni. Analiza i prezentacja wyników zostały przedstawiony na str. 53. Wyniki badań opisano na str. 54-88, wyodrębniając 3 podrozdziały: otrzymywanie ekstraktów, profilowanie i wpływ wyciągów, frakcji oraz flawonoidów *C. palustre* na motorykę jelit. Na str. 89-105 rozprawy przestawiono dyskusję nad uzyskanymi wynikami w kontekście doniesień innych autorów. Na str. 106-110 zostało przedstawione podsumowanie wyników. Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano 7 wniosków, które zostały wyszczególnione na str. 106-112. Na str. 113-148 wymieniono 318 pozycji piśmiennictwa. Całość pracy jest przejrzysta i czytelna.

2. Ocena merytoryczna pracy

2.1. Sformułowanie problemu naukowego i aktualność tematyki badań

Rozprawa lek. wet. Dominiki Szadkowskiej podejmuje szeroko rozumianą problematykę fitofarmakologii oraz jej praktycznego znaczenia dla medycyny weterynaryjnej i medycyny ludzkiej. Przedmiotem pracy była ocena wpływu substancji pochodzenia

roślinnego pozyskiwanych z ostrożenia błotnego (*Cirsium palustre* (L.) Scop.) – gatunku z rodziny Asteraceae o wciąż nie w pełni poznanym profilu fitochemicznym i aktywności biologicznej – na motorykę jelita czczego i okrężnicy świni. Ostrożeń błotny jest bogatym źródłem metabolitów wtórnych, szczególnie flawonoidów (m.in. apigeniny, luteoliny i chrysoeriolu). Związki te wykazują liczne właściwości biologiczne, w tym działanie przeciwutleniające, przeciwdrobnoustrojowe, antyproliferacyjne oraz zdolność do modulowania procesów komórkowych. Obecność tych substancji wskazuje na istotny potencjał farmakologiczny gatunku. Podjęta tematyka badań wpisuje się w aktualne światowe trendy ukierunkowane na poprawę dobrostanu zwierząt przy jednoczesnym utrzymaniu wysokiej wydajności produkcji oraz ograniczeniu stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych i przeciwpasożytniczych poprzez poszukiwanie naturalnych substancji wspierających zdrowie ludzi i zwierząt, w tym dodatków pochodzenia roślinnego. Szczególne znaczenie w tym kontekście mają fitogeniczne dodatki paszowe, obejmujące zioła, ekstrakty roślinne oraz bioaktywne związki roślinne, które wykazują potencjał w poprawie właściwości pasz, wspieraniu funkcjonowania przewodu pokarmowego oraz zwiększaniu efektywności produkcji zwierzęcej. Współczesna produkcja zwierzęca stoi bowiem przed istotnymi wyzwaniami związanymi z koniecznością ograniczenia stosowania antybiotyków a także rosnącymi wymaganiami konsumentów dotyczącymi jakości i naturalności produktów pochodzenia zwierzęcego oraz kwestiami środowiskowymi. Należy jednocześnie podkreślić, że w przeciwieństwie do medycyny ludzkiej, weterynaryjne produkty lecznicze pochodzenia roślinnego nie są obecnie objęte jednolitymi regulacjami prawnymi na poziomie Unii Europejskiej, w związku z czym funkcjonują głównie jako dodatki paszowe, co dodatkowo uzasadnia potrzebę prowadzenia badań nad ich skutecznością i bezpieczeństwem stosowania.

Reasumując uważam, że podjęta tematyka jest bardzo interesująca, aktualna i w istotnym stopniu wzbogaca stan wiedzy w tym obszarze.

2.2. Cel rozprawy

Celem pracy było określenie składu chemicznego kwiatostanów ostrożenia błotnego oraz kompleksowa ocena wpływu uzyskanych wyciągów, frakcji i głównych flawonoidów na spontaniczną i farmakologicznie indukowaną aktywność motoryczną mięśniówki okrężnej i podłużnej jelita czczego oraz okrężnicy świni.

Do zweryfikowania postawionej hipotezy, że zawarte w roślinie flawonoidy mogą modulować kurczliwość mięśniówki gładkiej jelit, co mogłoby pozwolić na opracowanie nowych leków roślinnych stosowanych w zaburzeniach przewodu pokarmowego sformułowano szczegółowe cele pracy, a mianowicie: opracowanie metody pozyskiwania

wyciągów i frakcji z kwiatów *Cirsium palustre* różnymi metodami ekstrakcyjnymi, określenie profilu fitochemicznego poszczególnych wyciągów i frakcji pozyskanych z kwiatów *Cirsium palustre*, ocena wpływu wyciągów, frakcji i głównych flawonoidów pozyskanych z *C. palustre* na spontaniczną aktywność motoryczną mięśniówki okrężnej i podłużnej jelita czczego i okrężnicy świni oraz ocena wpływu wyciągów, frakcji i głównych flawonoidów pozyskanych z *C. palustre* na indukowaną farmakologicznie aktywność motoryczną mięśniówki okrężnej i podłużnej jelita czczego i okrężnicy świni. Badania są dobrze udokumentowane i opisane zrozumiałym językiem, co ułatwia śledzenie rozprawy. Wszystkie cele badawcze zostały jasno zdefiniowane i w pełni zrealizowane. Na uwagę zasługuje dobrze napisany, bardzo kompletny i interesujący wstęp pracy.

2.3. Poprawność i oryginalność metodyczna

Metodyka badań wykorzystana do realizacji postawionych celów badawczych nie budzi zastrzeżeń i pozostaje zgodna z normami w tym zakresie. Badania zostały zaprojektowane i przeprowadzone przez lek. wet. Dominikę Szadkowską w sposób prawidłowy, z zachowaniem obowiązujących standardów dla każdej z zastosowanych procedur. W pracy wykorzystano szeroki zakres metod eksperymentalnych, obejmujących techniki ekstrakcji, frakcjonowania oraz zaawansowane analizy fitochemiczne, co świadczy o wysokich kompetencjach metodycznych Doktorantki. Materiał roślinny poddano ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami, uzyskując surowy wyciąg metanolowy z kwiatostanów *Cirsium palustre*, surowy 50% wyciąg metanolowy z kwiatostanów oraz surowy wyciąg wodny z kwiatostanów tej rośliny. Równolegle przeprowadzono frakcjonowanie metodą ciecz-ciecz ekstraktu otrzymanego po oczyszczeniu w aparacie Soxhleta, w wyniku czego uzyskano frakcję eterową, octanową i n-butanolową z kwiatostanów *Cirsium palustre*. Następnie otrzymane wyciągi i frakcje poddano szczegółowej analizie fitochemicznej z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detekcją fotodiodową i spektrometrią mas wysokiej rozdzielczości (LC-PDA-HRMS), co pozwoliło na identyfikację 37 metabolitów wtórnych. Analiza LC-PDA-HRMS została zaplanowana w sposób spójny z celem pracy i dobrze wspiera część farmakologiczną – szczególnie trafny jest dobór trybu jonizacji ujemnej oraz detekcji PDA przy 280/340/360 nm, co pozwala na wiarygodne profilowanie polifenoli i flawonoidów. Zastosowany długi gradient sprzyja rozdzieleniu związków o szerokim zakresie polarności (od estrów kwasu chinowego po aglikony), a porównanie R_t , UV i HRMS z literaturą jest standardowym podejściem w analizie fitochemicznej. Na plus należy zaliczyć logiczne powiązanie profilu frakcji z ich aktywnością biologiczną (np. wzbogacenie CP4 w aglikony czy dominację A7GLC w CP2/CP3/CP5). Jednocześnie analiza ma charakter głównie

jakościowy/semi-ilościowy – brak walidacji metody, parametrów system suitability czy dokładniejszych danych o fragmentacji MS/MS ogranicza siłę identyfikacji, szczególnie w przypadku dominującego niezidentyfikowanego piku $m/z \approx 785$.

Zastosowane metody, oparte na aktualnych doniesieniach literaturowych oraz częściowo zmodyfikowane przez Doktorantkę, umożliwiły kompleksową charakterystykę fitochemiczną badanego surowca oraz realizację założonych, nowatorskich celów badawczych.

2.4. Znaczenie uzyskanych wyników badań

Jako model badawczy *ex vivo* wykorzystano izolowane wycinki jelita świni. Badano osobno warstwę mięśniową podłużną i okrężną, zarówno dla jelita czczego, jak i okrężnicy. Przeprowadzone badania wykazały, że substancje pozyskane z *C. palustre* wykazują różnicowane, często przeciwstawne działanie na motorykę jelit. Działanie spazmolityczne (rozkurczowe) wykazały m.in. wyciąg metanolowy oraz chrysoeriol, które silnie zmniejszały kurczliwość we wszystkich badanych wycinkach. Działanie prokinetyczne (pobudzające skurcze) zaobserwowano w przypadku frakcji octanowej, n-butanolowej oraz 7-O-glukuronidu apigeniny. W przypadku wyciągu 50% metanolowego zaobserwowano działanie dwukierunkowe a mianowicie zwiększał on aktywność spontaniczną, jednocześnie osłabiając skurcze wywołane przez ACh.

Biorąc pod uwagę zbliżoną budowę anatomiczną i fizjologię przewodu pokarmowego świni i człowieka, uzyskane wyniki mogą stanowić podstawę do ich ekstrapolacji na organizm ludzki oraz wykorzystania w projektowaniu przyszłych badań weryfikujących przydatność *Cirsium palustre* jako suplementu lub leku w medycynie ludzkiej. Ponieważ zaburzenia czynnościowe przewodu pokarmowego występują zarówno u zwierząt jak również u ludzi i należą do najczęstszych schorzeń gastroenterologicznych tj. zespół jelita drażliwego czy dyspepsja czynnościowa, których patofizjologia jest złożona i obejmuje m.in. zaburzenia motoryki jelit, nadwrażliwość trzewną, zmiany mikrobiomu oraz dysfunkcję osi jelito-mózg. Ze względu na ograniczoną skuteczność dostępnych metod terapeutycznych, istnieje potrzeba poszukiwania nowych substancji o potencjale terapeutycznym, w tym związków pochodzenia roślinnego.

W mojej opinii model badawczy został dobrze przemyślany, uzyskane wyniki zostały prawidłowo przeanalizowane, zaś wyciągnięte wnioski są trafne, co w świetle wielowątkowości badań nie jest łatwe, uważam, że generalnie bardzo pozytywną cechą tej pracy jest to, że otwiera perspektywy dalszych interesujących badań. Zastosowane metody, oparte na aktualnych doniesieniach literaturowych oraz częściowo zmodyfikowane przez

Doktorantkę, umożliwiły kompleksową charakterystykę fitochemiczną badanego surowca oraz realizację założonych, nowatorskich celów badawczych.

2.5. Znajomość literatury związanej z tematyką pracy

Analiza dysertacji wskazuje, że lek. wet. Dominika Szadkowska doskonale orientuje się w aktualnym piśmiennictwie związanym z podjętą tematyką badań i potrafi je trafnie skonfrontować z wynikami badań własnych. Należy uznać, że w pełni i prawidłowo wykorzystwała bogate źródła piśmiennictwa obejmujące 318 pozycji, datowane na lata 1997-2025.

2.6. Uwagi polemiczne

Z obowiązku recenzenta proszę o ustosunkowanie się Doktorantki do poniższych pytań:

1. W analizie LC-PDA-HRMS identyfikacja związków opierała się głównie na Rt, widmach UV i dokładnej masie w trybie ESI(-). Czy rozważano potwierdzenie kluczowych metabolitów (np. A7GLC lub związku o m/z ~785) poprzez eksperymenty MS/MS oraz czy brak danych ilościowych (np. krzywych kalibracyjnych) nie utrudnia późniejszej interpretacji zależności dawka–efekt obserwowanej w badaniach farmakodynamicznych i potencjalnej translacji farmakokinetycznej?
2. Czy widzi Pani, jakieś przeszkody do wdrożenia ekstraktu *C. palustre* w leczeniu u ludzi i zwierząt jako wyrób medyczny lub dodatek paszowy np. kwestia standaryzacji, hydrolizy w żołądku lub stabilności w mieszankach paszowych?
3. Czy uzyskane wyniki można bezpiecznie ekstrapolować na inne gatunki zwierząt w leczeniu klinicznym ?

4. Wniosek końcowy

W mojej opinii, mimo powyższych uwag o charakterze polemicznym, oceniana rozprawa doktorska lek. wet. Dominiki Szadowskiej pt. „Wpływ wybranych ekstraktów oraz związków z *Cirsium palustre* (L.) Scop. (Asteraceae) na aktywność motoryczną izolowanych wycinków jelita świni” spełnia wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk. Prezentuje oryginalną wiedzę kandydatki w zakresie wybranej przez nią dyscypliny. Wykorzystanie chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas wysokiej rozdzielczości pozwoliło na kompleksową analizę profilu fitochemicznego ostrożeńa błotnego oraz identyfikację licznych metabolitów wtórnych, co stanowiło istotną podstawę dla osiągnięcia celów badawczych rozprawy doktorskiej. Było to możliwe dzięki opanowaniu przez lek. wet.

Dominikę Szadowską wiedzy teoretycznej z zakresu prowadzonych badań, ale także umiejętności praktycznych. Kandydatka do stopnia doktora umiejętnie sformułowała cele badawcze, które konsekwentnie zrealizowała i wyciągnęła prawidłowe wnioski, co świadczy o dobrym przygotowaniu do pracy badawczej. Realizacja badań o takim profilu wymaga od badacza wysokiego poziomu przygotowania merytorycznego, obejmującego zarówno specjalistyczną wiedzę dotyczącą badanego gatunku, jak i zaawansowane kompetencje metodyczne, w tym umiejętność obsługi specjalistycznej aparatury oraz znajomość nowoczesnych metod badawczych.

Podsumowując, przedstawiona do recenzji uchwałą Rady Dyscypliny Weterynaria Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z dnia 19 listopada 2025 r. praca doktorska lek. wet. Dominiki Szadkowskiej odpowiada aktualnym, dynamicznie rosnącym trendom i potrzebom w zakresie stosowania fitobiotyków u ludzi jak i u zwierząt.

Na podstawie dokonanej analizy, przedstawionej do oceny pracy doktorskiej lek. wet. Dominiki Szadkowskiej, stwierdzam, że odpowiada ona warunkom określonym w art. 187 ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Praw o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024, poza. 1571, z późniejszymi zmianami) i przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Weterynaria Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie wniosek o dopuszczenie pani lek. wet. Dominiki Szadkowskiej do publicznej obrony recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Jednocześnie, uwzględniając oryginalność oraz nowatorski charakter badań, rekomenduje wyróżnienie tej pracy stosowną nagrodą.



84367 13.02.2026 02 POLFCONA

OPLATA POBRANA
TAXE PERÇUE - POLOGNE
Umowa z Poczta Polska S.A.
ID 518459/W

Biurowo Obsługi Nauki
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 166, bud. 2, pok. 1
02-787 Warszawa



(00)759007734986695560

R

2025

Poczta Polska	zł	gr
Opłata pobrana		



KANCELARIA GŁÓWNA SGGW
2026 -02- 19
WYPŁYNĘŁO DNIA -7-