

dr hab. Marianna Szczypka, prof. uczelni  
Katedra Farmakologii i Toksykologii  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 12.03.2026 r.

## **RECENZJA**

**rozprawy doktorskiej lek. wet. Urszuli Latek**

**pt. „Wykorzystanie wycinków jelita cienkiego brojlerów kurzych**

**do oceny wpływu substancji roślinnych na wybrane funkcje przewodu pokarmowego”**

Przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską wykonano w Katedrze Nauk Przedklinicznych Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, pod kierunkiem Pani promotor dr hab. Marty Mendel, prof. SGGW oraz Pana promotora pomocniczego dr Wojciecha Karlika. Podstawę formalną wykonania niniejszej recenzji stanowi uchwała nr 39/WET-2025/2026 Rady Dyscypliny Weternaria Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z dnia 14 stycznia 2026 r.

Oceniana rozprawa doktorska jest podzielona w sposób przyjęty dla tego rodzaju prac i zawiera: oświadczenie promotora oraz oświadczenie autora rozprawy doktorskiej, spis treści, streszczenie w języku polskim, streszczenie w języku angielskim, wykaz stosowanych skrótów, wstęp, cele pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie i wnioski, bibliografię oraz aneks. Praca liczy 142 strony, zawiera 11 tabel, 45 rycin oraz 4 dodatkowe ryciny zawarte w aneksie. Bibliografia obejmuje 156 pozycji piśmiennictwa. Rozdziały „Materiały i metody” oraz „Wyniki” zostały dodatkowo uporządkowane przez wprowadzenie podrozdziałów.

Intensywny chów zwierząt, w tym drobiu, stawia wyzwania dotyczące zachowania dobrostanu zwierząt. Prawidłowe funkcjonowanie przewodu pokarmowego jest jednym z kluczowych elementów zdrowia zwierząt. Substancje, które korzystnie wpływają na funkcje przewodu pokarmowego (m.in. barierę jelitową, tkankę limfoidalną związaną z jelitem, mikrobiotę) zmniejszają ryzyko zaburzeń, w tym infekcji. Zastosowanie substancji o takim działaniu nie tylko może poprawiać dobrostan zwierząt, ale także prowadzić do ograniczenia

zużycia leków przeciwbakteryjnych. Redukcja stosowania leków przeciwbakteryjnych, zgodna z podejściem „One Health”, jest ogromnie istotna, ponieważ prowadzi do spadku ryzyka pojawiania się bakterii opornych, zagrażających zdrowiu ludzi i zwierząt. W tym kontekście obiecującym przedmiotem badań są substancje pochodzenia roślinnego, możliwe do stosowania u zwierząt.

Biorąc pod uwagę wyżej wymienione aspekty, wybór tematu badań jest uzasadniony, bardzo aktualny i interesujący zarówno z naukowego punktu widzenia, jak również od strony zastosowań w praktyce.

Wstęp ocenianej rozprawy doktorskiej jest bardzo ciekawym spojrzeniem na podjętą tematykę badań, uwzględniającym różne aspekty m.in. wyzwania jakie stawia intensywny chów zwierząt, konieczność poszukiwania alternatyw dla antybiotykoterapii czy konieczność ograniczania wykorzystywania zwierząt do celów naukowych (zasady 3R). We wstępie scharakteryzowane są również rośliny, których wyciągi zostały wykorzystane w badaniach. Ponadto, Doktorantka dokonuje syntetycznego przeglądu dostępnej metodyki *in vitro* oraz *ex vivo* służącej do oceny funkcji przewodu pokarmowego, wskazując zalety i wady metod. Zwraca uwagę na problemy interpretacyjne wyników uzyskiwanych w badaniach na innych gatunkach zwierząt i możliwe błędy wynikające z ekstrapolacji danych między gatunkami. Doktorantka charakteryzuje również wykorzystanie w badaniach *ex vivo* komory Ussinga i Schulera oraz uzasadnia konieczność opracowania odpowiedniego protokołu doświadczalnego dla badań wykorzystujących wycinki jelit brojlerów kurzych pozyskane poubojowo.

Wstęp świadczy o bardzo dużej teoretycznej wiedzy Doktorantki i umiejętności ujęcia tematu z różnych perspektyw. Doktorantka bardzo umiejętnie wprowadza w temat rozprawy, w pełni uzasadniając wybór tematyki badań. Wstęp został wzbogacony o ryciny wykonane przez Doktorantkę, co zasługuje na dodatkowe uznanie.

W rozprawie Doktorantka wskazuje trzy prawidłowo i jasno sformułowane cele pracy:

- 1) optymalizacja procedury pobierania i transportu wycinków jelit brojlerów kurzych pochodzących z przemysłowego uboju oraz charakterystyka pozyskanych z nich eksplantów błony śluzowej;
- 2) ocena właściwości czterech dodatków paszowych pochodzenia roślinnego stosowanych u drobiu pod kątem ich aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwzapalnej i antyoksydacyjnej w badaniach *in vitro* i wybór jednego z nich do dalszych badań;
- 3) ocena aktywności wybranego dodatku paszowego w badaniach *ex vivo*.



Rozdział „Materiały i metody” to obszerna część pracy, co wynika z rozbudowanej części eksperymentalnej.

Do realizacji pierwszego celu rozprawy służyła następująca metodyka. Płukanie i transport pobranych wycinków jelit przeprowadzono w ośmiu wersjach, gdzie zmiennymi były płyny do płukania i transportu oraz temperatura (0-4°C lub 38°C). W badaniach wykorzystano niepreparowane i preparowane wycinki jelita czczego, przy czym nie wszystkie oznaczenia dotyczyły obydwu rodzajów wycinków. Charakterystyka eksplantów wiązała się z badaniami przeprowadzonymi w komorze Ussinga. Do oceny żywotności posłużył test uwalniania dehydrogenazy mleczanowej (LDH). Do oceny integralności posłużyło określenie parametrów elektrofizjologicznych takich jak przeznabłonkowy opór elektryczny (TEER), prąd zwarcia (Isc), przewodność całkowita (Gt), przewodność komórkowa (Gc), przeznabłonkowa różnica potencjałów (TEP), oraz ocena transportu substancji znacznikowych (markerów transportu) takich jak żółć lucyferowa, mannitol, peroksydaza chrzanowa, kofeina.

Do realizacji drugiego celu pracy wykorzystano cztery roślinne dodatki paszowe w postaci suchych wyciągów z: korzenia mniszka lekarskiego - *Taraxacum officinale* (L.) Weber; ziela nawłoci pospolitej - *Solidago virgaurea*; nasion ostropestu plamistego - *Silybum marianum* (L.) Gaertn; ziela karczocha zwyczajnego - *Cynara scolymus*. Ocena wyciągów polegała na określeniu w badaniach *in vitro* ich aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwzapalnej i antyoksydacyjnej. Działanie przeciwbakteryjne oceniano poprzez: wyznaczenie minimalnego stężenia hamującego (MIC) dla 6 szczepów bakteryjnych; określenie wpływu na tworzenie biofilmu przez *Staphylococcus epidermidis*; określenie aktywności *anti-quorum sensing*. Właściwości antyoksydacyjne mierzono testem redukcji rodników 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylowych (DPPH) oraz testem redukcji rodników 2,2-azynobis-(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu) (ABTS+). Do oceny właściwości przeciwzapalnych posłużył test hamowania wytwarzania tlenku azotu (NO) przez ustaloną linię mysich makrofagów RAW 264.7.

Na podstawie uzyskanych wyników, do dalszych badań wybrano wyciąg z *Silybum marianum* (L.) (Sm). Określano wpływ wyciągu na integralność i żywotność eksplantów błony śluzowej jelita czczego w komorze Ussinga, poprzez oznaczenie wybranych parametrów elektrofizjologicznych: TEER, Isc, Gt, Gc, TEP oraz wykonanie testu uwalniania LDH. Z kolei na płytkach wielodołkowych określano uwalnianie LDH oraz NO. W komorze Schulera oceniano wpływ wyciągu Sm na aktywność mięśni gładkich spontaniczną oraz

indukowaną acetylocholiną dla trzech różnych odcinków jelit cienkich: dwunastnicy, części proksymalnej jelita czczego oraz części dystalnej jelita czczego.

Podobnie jak we wstępie, również w rozdziale „Materiały i metody” Doktorantka zamieściła własne ilustracje i zdjęcia, w tym schematy doświadczeń, co zasługuje na docenienie. To wzbogaca pracę i w dużym stopniu ułatwia zapoznanie się z jej treścią. Metodyka badań jest prawidłowo dobrana do realizacji założonych celów rozprawy, w badaniach wykorzystano szeroki wachlarz metod. Podkreślić należy, że zaplanowano ambitne i obszerne badania. Jednak przyjęty schemat doświadczeń w niektórych kwestiach nie jest wystarczająco dokładnie opisany (komentarz poniżej).

Rezultaty przeprowadzonych badań zostały opisane przez Doktorantkę w rozdziale „Wyniki” oraz przedstawione na 25 rycinach (ryc. 21-45) oraz w 9 tabelach (tab. 3-11). Wyniki zostały poddane odpowiedniej analizie statystycznej, przy użyciu metody jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA), a następnie testu post hoc Tukeya, jeśli porównywano więcej niż dwie grupy, lub testu t-studenta, jeśli porównywane były tylko dwie grupy. Wyniki badań są szczegółowo opisane, ich wizualne przedstawienie jest czytelne i staranne, w przeważającej większości wyniki są prawidłowo zinterpretowane (uwagi poniżej).

W rozdziale „Dyskusja” Doktorantka umiejętnie porównuje wyniki swoich badań z wynikami uzyskanymi przez innych autorów. Analogicznie do trzech celów pracy, dyskusja najpierw dotyczy procesu optymalizacji procedury, później omawiany jest aspekt przesiewowych badań dotyczących czterech badanych wyciągów roślinnych, a na końcu szczegółowo dyskutowane są wyniki dotyczące wyciągu z *S. marianum*. W przypadku szeroko zakrojonych badań prowadzenie dyskusji jest trudnym wyzwaniem, z którym Doktorantka bardzo dobrze sobie poradziła. Na docenienie zasługuje fakt, że w wielu miejscach dyskusji Doktorantka odnosi się do szczegółowych rezultatów uzyskanych przez inne zespoły i porównuje je z konkretnymi wynikami swoich badań, od razu wskazując możliwe przyczyny ewentualnych różnic. To pokazuje, że Doktorantka dogłębnie analizowała poszczególne aspekty i dążyła do wyjaśnienia poszczególnych zagadnień. Ta część rozprawy doktorskiej jest bardzo wartościowa, prowadzona w dojrzały, logiczny sposób. Dyskusja świadczy o wnikliwym przemyśleniu przez Doktorantkę różnych aspektów podjętej tematyki i, podobnie jak wstęp, potwierdza ogromną wiedzę Doktorantki.



W ocenianej rozprawie doktorskiej Doktorantka odnosi się do obszernego (156 pozycji), właściwie dobranego piśmiennictwa, związanego z tematyką podjętych badań. Doktorantka odnosi się zarówno do publikacji starszych, jak i tych najnowszych (wiele z nich to publikacje z ostatnich kilku lat). We wstępie i dyskusji Doktorantka odniosła się do tematyki badań uwzględniając różne aspekty, a w części eksperymentalnej korzystała z różnych metod badawczych. To przekłada się na konieczność zapoznania się z obszerną bibliografią, co zasługuje na podkreślenie i docenienie.

W oparciu o uzyskane wyniki badań Doktorantka sformułowała 21 wniosków: siedem odnoszących się do pierwszego celu pracy, sześć - do drugiego celu oraz osiem - do trzeciego celu pracy.

Wnioski związane z pierwszym celem pracy to: możliwość wykorzystania wycinków jelit brojlerów kurzych pozyskanych z uboju przemysłowego do badań w komorze Ussinga; duża zmienność międzyosobnicza wycinków; krótka ich przeżywalność (do 120 minut); transport (0-4°C lub 38°C) w podłożu bogatym w składniki odżywcze, z dodatkiem FBS; konieczność preparacji wycinków; wskazanie proponowanych do oceny wycinków parametrów elektrofizjologicznych: TEER, Gt, Gc, TEP, Isc oraz markera transportu: mannitolu.

We wnioskach odnoszących się do drugiego celu pracy Doktorantka wskazuje, że żaden z badanych wyciągów nie wykazuje silnego działania przeciwbakteryjnego *in vitro* w zakresie testowanych właściwości; wyciąg z *Silybum marianum* wykazuje umiarkowane działanie przeciwbakteryjne wobec bakterii patogennych dla przewodu pokarmowego (badane szczepy *Escherichia coli* oraz badane serowary *Salmonella enterica* subsp. *enterica*); jedynie wyciąg z *Solidago virgaurea* wykazuje satysfakcjonujące właściwości hamujące formowanie biofilmu, żaden z testowanych wyciągów nie wykazuje satysfakcjonujących właściwości niszczenia wytworzonego biofilmu; jedynie wyciąg z *Silybum marianum* (L.) wykazuje właściwości hamujące *quorum sensing*; wyciągi z *Cynara scolymus* oraz *Silybum marianum* (L.) wykazują silne działanie antyoksydacyjne; Sm w badanym modelu *in vitro* oraz *ex vivo* wykazuje działanie przeciwzapalne.

We wnioskach związanych z trzecim celem pracy Doktorantka wskazuje na protekcyjne działanie wyciągu z *Silybum marianum* na eksplanty jelitowe oraz opisuje wpływ wyciągu na mięśniówkę jelit cienkich. W ostatnim wniosku podsumowuje wpływ Sm jako nasilenie spontanicznej aktywności oraz osłabienie kurczliwości indukowanej acetylocholiną.

Większość wniosków jest uzasadnionych i prawidłowo ujętych. Jednak niektóre z nich, moim zdaniem, wymagają przeredagowania (uwagi poniżej).

Zatem, założone cele pracy zostały osiągnięte, a wnioski wypływające z przeprowadzonych badań niosą ze sobą dużą wartość poznawczą. Mają również istotne znaczenie praktyczne, zarówno w odniesieniu do możliwości wykorzystywania opracowanego modelu pozyskiwania i oceniania wycinków jelit drobiu pozyskanych poubojowo, jak i w odniesieniu do wyników dotyczących wyciągów roślinnych.

Poniżej przedstawiam komentarze/uwagi/pytania, jakie pojawiły się w trakcie zapoznawania się z przedstawioną do recenzji pracą doktorską.

- W rozdziale „Materiały i metody” powinno być jednoznacznie wskazane, które doświadczenia przeprowadzono na wycinkach niepreparowanych i preparowanych, a które tylko na preparowanych (np. w odniesieniu do parametrów elektrofizjologicznych czy markerów transportu). Większość tych wątpliwości wyjaśnia się podczas czytania opisu wyników i dyskusji, niemniej kwestie te powinny być jasno określone już na etapie opisu metodyki.
- W opisie metodyki jest informacja o tym, że wyciąg z nasion ostropestu plamistego zawiera 80% sylimaryny, a wyciąg z ziela karczocha zwyczajnego - 5% cynaryny. Natomiast brak takiej informacji dla wyciągów z korzenia mniszka lekarskiego i ziela nawłoci pospolitej. Czy te wyciągi były standaryzowane pod kątem zawartości jakiejś substancji aktywnej?
- Standardowo, przedziały liczbowe zapisuje się od wartości niższych do wyższych, dotyczy to również zapisu zakresów stężeń. Tymczasem w wielu miejscach rozprawy jest odwrotny zapis, czyli zakresy stężeń są podane od najwyższej wartości do najniższej (np. na s. 45, 50, 98, w opisie ryc. 31, 32, w tab. 9).
- Na s. 45 jako najwyższe stężenie wyciągów roślinnych podano 2,5 mg/ml, a gentamycyny - 0,05 mg/ml. Tymczasem na ryc. 11 są inne wartości: dla wyciągów – 2 mg/ml, dla gentamycyny - 0,5 mg/ml.
- Na s. 46 brak wyjaśnienia, dlaczego w przypadku wyciągu z *Silybum marianum* użyto innego stężenia (1,25 mg/ml) niż dla pozostałych wyciągów (2 mg/ml). Ponadto, dlaczego stężenie Sm 1,25 mg/ml zostało nazwane subMIC, skoro stężenie MIC dla Sm dla *S. epidermidis* wyznaczone w niniejszej pracy wynosi 0,73 mg/ml (tab. 7)?
- Na s. 56 jest mowa o dodawaniu lipopolisacharydu (LPS) w stężeniach 0-80 µg/ml. Podanie w ten sposób zakresu stężeń jest mylące, ponieważ LPS był użyty tylko w dwóch stężeniach 40 oraz 80 µg/ml.



- Na s. 79 jest stwierdzenie: „Inkubacja wycinków z badanymi substancjami, we wszystkich wariantach, spowodowała istotny wzrost przewodności komórkowej w porównaniu do warunków kontrolnych”. Tymczasem, w tab. 11 dla przewodności komórkowej różnica istotna statystycznie w porównaniu z kontrolą dotyczy wyłącznie grupy „LPS + Sm” i jest to spadek Gc, a nie wzrost.
- Przyjęte symbole powinny być konsekwentnie stosowane. Na ryc. 34 i 35 oznaczenia „słupków” to „LPS\_S” z odpowiednim stężeniem (przy czym zamiast „S” powinno być „Sm”, ponieważ taki skrót przyjęto dla tego wyciągu), a na ryc. 36 i 37 jest odwrotnie „Sm\_LPS”.
- W opisie wyników na s. 83 oraz w dyskusji na s. 117 jest mowa o tym, że Sm zwiększa spontaniczną kurczliwość mięśniówki dwunastnicy od stężenia 0,0005 mg/ml. Tymczasem, na ryc. 39 różnice istotne statystycznie zaczynają się od stężenia 0,001 mg/ml.
- W opisie wyników na s. 84 oraz w dyskusji na s. 118 jest mowa o tym, że Sm zmniejsza kurczliwość mięśniówki dwunastnicy indukowaną acetylocholiną od stężenia 0,001 mg/ml. Tymczasem, na ryc. 41 różnice istotne statystycznie zaczynają się od stężenia 0,05 mg/ml.
- Działanie przeciwzapalne trudno ustalić na podstawie oceny jednego parametru, w tym przypadku wpływu na uwalnianie tlenu azotu. Żeby mówić o działaniu przeciwzapalnym, badania w tym zakresie powinny być bardziej rozbudowane np. o ocenę wpływu na produkcję cytokin prozapalnych czy przeciwzapalnych (linia komórkowa RAW 264.7. daje takie możliwości). Z tego powodu, w rozprawie lepsze byłoby używanie określenia „hamowanie uwalniania tlenu azotu” zamiast „działanie przeciwzapalne”. A wniosek 13 można przeredagować na: „Sm w badanym modelu *in vitro* oraz *ex vivo* wykazuje działanie hamujące uwalnianie tlenu azotu”.
- Zdanie drugie z wniosku 10. powinno być przeredagowane, ponieważ stwierdzenie „żaden z testowanych wyciągów nie wykazuje satysfakcjonujących właściwości niszczenia wytworzonego biofilmu bakteryjnego” jest mylące. Badane wyciągi w ogóle nie wykazały takiego działania, wręcz mogą sprzyjać powstawaniu biofilmu. Wg mnie, wniosek powinien brzmieć tak, jak jest to ujęte na s. 105 rozprawy: „Wszystkie badane wyciągi okazały się nieskuteczne w niszczeniu już utworzonego biofilmu bakteryjnego”
- Niektóre wnioski można połączyć: wniosek 9. z 11., 14. z 15.
- Aż 6 wniosków (16-21) dotyczy wpływu Sm na mięśnie gładkie. Wg mnie, są one zbyt szczegółowe, niektóre można połączyć (18., 19. i 20.) albo pozostawić tylko wniosek 16. i 21.
- Na ryc. 30, 31, 32, 33 oraz w tab. 9 użyto nazwy „*Taracacum officinale*” zamiast „*Taraxacum officinale*”.

- Na s. 73 jest odniesienie do tabeli 7, a powinno być do tabeli 9.
- W bibliografii brak publikacji „Brand-Williams i wsp. (1995)” zacytowanej na s. 50 oraz „Söderholm i wsp. (1998)” zacytowanej na s. 96. Na s. 113 zacytowano dwie publikacje Zhang i in. (2017a, 2017b), w bibliografii jest tylko jedna praca tych autorów. W bibliografii są wymienione publikacje: Mfotie Njoya, E., et al. (2017)., Nunes, R., et al. (2016), Pinton, P., et al. (2009), Randall, K. J., et al. (2011), które nie zostały zacytowane w pracy doktorskiej.

Podsumowując, Doktorantka wykonała interesującą pracę badawczą, o dużej wartości zarówno naukowej, jak i aplikacyjnej. Doktorantka jest dobrze przygotowana do samodzielnej pracy naukowej. Duży zakres przeprowadzonych badań, sposób przedyskutowania uzyskanych wyników świadczy o bardzo dużym zaangażowaniu Doktorantki. Przedstawiona do oceny praca doktorska zawiera oryginalne rozwiązanie aktualnego problemu naukowego, potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w dyscyplinie weterynaria oraz przygotowanie Doktorantki do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Doktorantka wykonała obszerną pracę badawczą oraz wykazała bardzo dobrą znajomość metodyki badań. Wnioski wynikające z pracy doktorskiej posiadają istotne znaczenie naukowe oraz praktyczne.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani lek. wet. Urszuli Latek pt. „Wykorzystanie wycinków jelita cienkiego brojlerów kurzych do oceny wpływu substancji roślinnych na wybrane funkcje przewodu pokarmowego” spełnia wymagania określone w art. 187 ust. 1–4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. 2024 poz. 1571 z późn. zm.) i może stanowić podstawę do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria. Zatem, zwracam się z wnioskiem do Rady Dyscypliny Weterynaria Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie Pani lek. wet. Urszuli Latek do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

*Marianna Szczypka*

dr hab. n. wet. Marianna Szczypka, prof. uczelni



Imię Szczyńska

Instytut Przyrodniczy  
WE WROCŁAWIU  
Norwida 25, 50-375 Wrocław  
FARMAKOLOGII I TOKSYKOLOGII  
Norwida 31, 50-375 Wrocław  
tel. 71 320 54 03

1309/2026

OPŁATA POBRANA  
TAXE PERÇUE - POLOGNE  
Umowa z Poczta Polska S.A.  
ID nr 610728/D



PRIORYTET

Sekretariat Instytutu Medycyny Weterynaryjnej  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
w Warszawie

ul. Nowoursynowska 159  
02-776 WARSZAWA

759007734629040092



759007734629040092

759007734629040092



olska

opłata \_\_\_\_\_ zł \_\_\_\_\_ gr

2025

KANCELARIA GŁÓWNA SGGW

2026 -03- 18

WPLYNĘŁO DNIA -5-



RPL/6973/2026 N