

Poznań, dnia 12.09.2020

dr hab. inż. Joanna Zeyland, prof. UPP
Katedra Biochemii i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Dojazd 11
60-632 Poznań

Recenzja

rozprawy doktorskiej **mgr. inż. Mateusza Szudzika**

pt. „Wpływ suplementacji mieszanej prosiąt żelazem na metabolizm tego mikroelementu, rozwój osobniczy i jakość tuszy u świń rasy wbp i linii 990”

wykonanej pod kierunkiem

promotora dr. hab. inż. Rafała Radosława Starzyńskiego, prof. IGHZ PAN

w

Zespole Biologii Molekularnej Żelaza, Zakładzie Biologii Molekularnej

Instytucie Genetyki i Biotechnologii Zwierząt

Polskiej Akademii Nauk w Jastrzębcu

Poniższa recenzja rozprawy doktorskiej pana mgr. inż. Mateusza Szudzika przygotowana została na podstawie decyzji Rady Naukowej Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu, obecnie Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN powołującej moją osobę na recenzenta wyżej wymienionej dysertacji (pismo SRN-0001/3/2020 z dnia 17. sierpnia 2020 r., podpisane przez prof. dr hab. Marka Łukaszewicza, Zastępcę Dyrektora Instytutu ds. Naukowych).

Przedstawioną do oceny rozprawę doktorską stanowi spójny tematycznie zbiór trzech następujących artykułów naukowych opublikowanych w latach 2018-2020 wraz z omawiającym je autorem:

A1. Mateusz Szudzik, Rafał R. Starzyński, Aneta Jończy, Rafał Mazgaj, Małgorzata Lenartowicz, Paweł Lipiński. (2018). Iron Supplementation in Suckling Piglets: An Ostensibly Easy Therapy of Neonatal Iron Deficiency anemia. *Pharmaceuticals (Basel)*. doi:10.3390/ph11040128

A.2 Mateusz Szudzik, Paweł Lipiński, Aneta Jończy, Rafał Mazgaj, Marek Pieszka, Marian Kamyczek, Ewa Smuda, Rafał R. Starzyński. (2019). Long-term Effect of Split Iron Dextran/Hemoglobin Supplementation on Erythrocyte and Iron Status, Growth Performance, Carcass Parameters and Meat Quality of Polish Large White and 990 Line Pigs. *Biological Trace Element Research*. doi.org/10.1007/s12011-019-01950-w

A.3. Mateusz Szudzik, Rafał Mazgaj, Paweł Lipiński, Robert Staroń, Aneta Jończy, Marek Pieszka, Małgorzata Lenartowicz, Aleksandra Bednarz, Marian Kamyczek, Coby Laarakkers, Dorine Swinkels, Rafał R. Starzyński. (2020) Innovative oral sucrosomial ferric pyrophosphate-based supplementation rescues suckling piglets from iron deficiency anemia similarly to commonly used parenteral therapy with iron dextran. *Annals of Animal Science*. doi: 10.2478/aoas-2020-0084

Publikacja oznaczona A.1 jest artykułem przeglądowym, który został opublikowany w 2018 roku w czasopiśmie *Pharmaceuticals (Basel)*, IF₂₀₁₉ = 4,286. Publikacja oznaczona A.2 jest pracą oryginalną opublikowaną w roku 2019 w czasopiśmie *Biological Trace Element Research*, IF₂₀₁₉ = 2,639. Praca oznaczona A.3 została opublikowana w roku 2020 w czasopiśmie *Annals of Animal Science*, IF₂₀₁₉ = 1,572 i również jest pracą oryginalną. Niestety w chwili sporządzania recenzji, nie udało się uzyskać dostępu do pracy poprzez wskazany przed Doktoranta doi:10.2478/aoas-2020-0084. Recenzent zakłada, że powyższy artykuł został zaakceptowany przez redakcję czasopisma *Annals of Animal Science*, ale procedura publikacyjna nie została jeszcze zakończona. W tej sytuacji wskazanym byłoby umieścić stosowną adnotację od redakcji potwierdzającą przyjęcie artykułu. Autor nie podał również, w którym wolumenie i numerze kwartalnika praca zostanie opublikowana (vol.20, no.2?). W chwili obecnej artykuł jest niedostępny dla szerszego grona czytelników, a recenzent liczy na to, że do dnia obrony statusu pracy ulegnie zmianie.

We wszystkich pracach stanowiących spójny tematycznie zbiór, mgr inż. Mateusz Szudzik jest pierwszym autorem. Na podkreślenie zasługuje fakt, że współautorzy zaznaczają, że udział mgr. inż. Mateusza Szudzika we wszystkich wyżej wymienionych pracach był pierwszoplanowy. Każdy artykuł był efektem samodzielnie postawionych hipotez, popartych własnoręcznie przeprowadzonymi doświadczeniami laboratoryjnymi, czego efektem było uzyskanie oryginalnych wyników. Udział pozostałych osób, w większości ograniczył się do bieżących konsultacji wyników, drobnej pomocy w wykonaniu analiz laboratoryjnych oraz współredagowania tekstu manuskryptów. Oświadczenia współautorów podpisane zostały własnoręcznie, nie ma zatem wątpliwości, że wkład mgr. inż. Mateusza Szudzika w powstanie artykułów był wiodący. Świadczy to o dużej dojrzałości naukowej oraz samodzielności Doktoranta, co należy zdecydowanie **podkreślić i docenić**. Umiejętność zaprojektowania

doświadczeń *ergo* samodzielność naukowa jest bardzo ważną i cenną cechą dobrego młodego badacza, którą niewątpliwie można przypisać panu mgr. inż. Mateuszowi Szudzikowi. Umiejętne korzystanie z porad i wsparcia bardziej doświadczonych badaczy jest również atutem pana Szudzika.

Praca doktorska mgr. inż. Mateusza Szudzika porusza istotny problem dotyczący niedokrwistości u prosiąt związanej z niedoborem żelaza, która pojawia się u nich niezależnie od rasy, sposobu żywienia macior czy systemu utrzymania zwierząt. Żelazo jest niewątpliwie kluczowym pierwiastkiem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania zarówno człowieka, jak i zwierząt. Właściwości oksydoredukcyjne żelaza powodują, iż pierwiastek ten zaangażowany jest w kluczowe szlaki metaboliczne organizmu warunkując prawidłowy przebieg wielu procesów życiowych, w szczególności związanych z przemianami energetycznymi komórki, transportem tlenu i syntezą kwasów nukleinowych. Chociaż zasadniczo obrót żelaza w organizmie odbywa się w systemie zamkniętym, na zasadzie balansu pomiędzy procesami uwalniania, a jego wtórnym wychwytem, to jednak utrata tego pierwiastka związana z wydalaniem wraz z obumierającym nabłonkiem czy sokami trawiennymi musi zostać zrekompensowana. Ilość zmagazynowanego żelaza w wątrobie noworodków świni wystarcza by pokryć zapotrzebowanie na ten pierwiastek tylko przez pierwsze 3-4 dni życia, co jest wynikiem skrajnie niskim w porównaniu np. z człowiekiem, u którego zmagazynowany zapas wystarcza na około pół roku. Niski startowy poziom żelaza wiąże się niewątpliwie z ryzykiem rozwinięcia niedokrwistości (IDA). W swojej dysertacji mgr inż. Mateusz Szudzik przedstawia nam powyższe zagadnienie, opisując wnikliwe parametry charakteryzujące IDA. Doktorant bardzo szeroko referuje również etiologię tej jednostki chorobowej wskazując na niski poziom żelaza w wątrobie, niską zawartość żelaza w mleku loch oraz nie w pełni rozwinięte molekularne mechanizmy absorpcji żelaza w okresie neonatalnym, jako podstawowe przyczyny niedokrwistości na tle niedoboru żelaza u prosiąt (publikacja A.1). Szczególną uwagę zwraca drobiazgowość w opracowaniu części pracy dotyczącej molekularnych mechanizmów absorpcji żelaza w okresie neonatalnym (podsumowanej w rozdziale 1.2.3 autoreferatu). Rysunek 1 zamieszczony w autoreferacie, a zaczerpnięty z przeglądowej publikacji A.1 i zmodyfikowany, niewątpliwie ułatwia czytelnikowi przyswojenie szlaków wchłaniania żelaza niehemowego w enterocytach dwunastnicy. Drobne nieścisłości między opisem pod rysunkiem, a w obrębie rysunku nie mają znaczenia merytorycznego i nie zostały wzięte pod uwagę przy ocenie, lecz jedynie są edytorskim niedopatrzeniem powstałym prawdopodobnie przy tłumaczeniu z języka publikacji na język polski lub wynikającym z

pośpiechu („błona boczno-podstawna, błona podstawno-boczna, Rysunek 1. Szlaki wchłanianie żelaza...”).

W odpowiedzi na przedstawione powody niedoborów żelaza u zwierząt, w ramach logicznego ciągu przyczynowo-skutkowego, Autor następnie prezentuje strategie suplementacji prosiąt żelazem celem zapobiegania rozwijaniu się niedokrwistości i wsparcia prawidłowego rozwoju prosiąt. Żelazo podane domięśniowo w wysokich dawkach, chociaż powszechnie uznawane przez weterynarzy i hodowców za „złoty standard”, nie jest wydajnie metabolizowane i może negatywnie wpływać na utrzymanie homeostazy tego pierwiastka w organizmie. Kumulacja suplementowanego parenteralnie żelaza może być toksyczna i wtórnie hamować wchłanianie tego pierwiastka z pożywienia oraz uwalnianie z makrofagów. Indukowana w ten sposób nadekspresja hepcydyny zmniejsza biodostępność żelaza w organizmie. Natomiast suplementacja paszy preparatami żelaza niehemowego, chociaż proceduralnie mniej czasochłonna, jest dużo mniej efektywna ze względu na niskie spożycie paszy przez prosięta w początkowym okresie życia oraz zdrowotne skutki uboczne np. biegunki. Korzystniejszym rozwiązaniem wydaje się być doustna suplementacja diety żelazem hemowym lub liposomalnym, czym w swoich pracach zajął się mgr inż. Mateusz Szudzik.

Wstęp teoretyczny w sposób rzeczowy wprowadza czytelnika w literaturę przedmiotu opierając się na licznych referencjach publikacyjnych (w sumie ponad 80 pozycji). Choć dobór pozycji literaturowych nie budzi merytorycznych zastrzeżeń, zabrakło najnowszych doniesień, a zaledwie 13 cytowanych prac zostało opublikowanych w i po roku 2016. Oczywiście uwaga ta nie zmienia faktu, że dobór referencji w trzech prezentowanych artykułach (publikacje A.1 do A.3) jest trafny i adekwatny do prezentowanych zagadnień.

Przedstawione i opisane wcześniej zagadnienia z zakresu niedokrwistości na tle niedoboru żelaza u prosiąt, jej przyczyn oraz możliwości zapobiegania stały się przesłankami do postawienia przez mgr. inż. Mateusza Szudzika trzech hipotez badawczych. Pierwsza dotyczyła zastosowania mieszanej suplementacji prosiąt (żelazo hemowe per os/iniekcje domięśniowe dekstranu żelaza) i jej wpływu na parametry użytkowości rzeźnej tuczników oraz mniejszej toksyczności w porównaniu do tradycyjnej suplementacji. W sformułowaniu tej hipotezy zabrakło przymiotnika opisującego parametry użytkowości rzeźnej tuczników. Czy chodziło o prawidłowe albo wysokie parametry? Druga hipoteza badawcza, choć mająca uzasadnienie, została sformułowana niezbyt jasno dla czytelnika. Wydaje się, że skuteczność mieszanej suplementacji *sensu stricto* jest stała, ale biorąc pod uwagę różne zapotrzebowanie na żelazo osobników należących do poszczególnych ras, jest zależna od zastosowanej dawki, którą należy każdorazowo dostosować. Trzecia hipoteza nie budzi zastrzeżeń. Adekwatnie do

postawionych hipotez, przedstawione zostały i opisane główne cele pracy. Jedynym zastrzeżeniem jest użycie sformułowania „Sprawdzenie **dalekosiężnego** efektu mieszanej suplementacji prosiąt ...”. Prosiłabym o uszczegółowienie określenia dalekosiężny efekt w kontekście pierwszego celu pracy.

Materiały i metody wykorzystane w pracach (publikacje A.2 i A.3) zostały dobrane właściwie, zgodnie z tym, jakie zostały postawione cele do zrealizowania. Opis tej części jest bardzo przejrzysty i zrozumiały, co świadczy o tym, że mgr inż. Mateusz Szudzik zna i osobiście wykonywał opisane doświadczenia. Jedynie część dotycząca pomiaru poziomu hepcydyny w surowicy metodą łączonej chromatografii jonowymiennej oraz spektrometrii mas Maldi-TOF została wyraźnie wskazana jako ta, która została wykonana przy współpracy z prof. Swinkels z *Radboud Univeristy Nijmegen*. Po analizie materiałów i metod publikacji nasuwają się następujące pytania/sformułowania:

1. Czym był podyktowany dobór płci (osobniki tylko męskie) do doświadczeń i szerzej jak przedstawia się metabolizm żelaza u obu płci?
2. Proszę rozwinąć zagadnienie (opisane po krótko w publikacji A.2) a związane z uzasadnieniem doboru ras świń do doświadczeń.
3. Jakie były podstawy wytypowania reduktazy glutationowej, jako genu referencyjnego z 5 różnych branych pod uwagę (jakich)?
4. Dlaczego użyto syntetycznego wzorca hepcydyny-25 człowieka?

Podsumowując część pracy dotyczącą metod, pragnę wyrazić podziw dla Doktoranta za znajomość szerokiego wachlarza metod i umiejętne ich wykorzystanie. Niewątpliwe warsztat metodyczny mgr. inż. Mateusza Szudzika jest poparty wieloletnim doświadczeniem zespołu Biologii Molekularnej Żelaza, Zakładu Biologii Molekularnej oraz promotora dr. hab. inż. Rafała Radosława Starzyńskiego, prof. IGHZ PAN.

Za najważniejsze w pracy uznaję:

1. wskazanie, że mieszana suplementacja spełnia podstawowy warunek zapobiegania anemii w stopniu porównywalnym do rutynowej suplementacji (publikacja A.2);
2. określenie, że zapotrzebowanie na żelazo może być odmienne dla różnych ras świń (publikacja A.2);

3. wskazanie, że suplementacja mieszana nie powodowała obniżenia zawartości żelaza w mięśniach szkieletowych świń, co ma znaczenie dla konsumentów mięsa wieprzowego będącego źródłem tego pierwiastka w diecie (publikacja A.2);
4. wykazanie, że parametry jakości mięsa (między innymi oko polędwicy, barwa, grubość słoniny i inne) przekładające się na jakość wieprzowiny, u świń badanych ras otrzymujących mieszaną suplementację, nie różnią się od tych suplementowanych tradycyjnie (publikacja A.2);
5. wykazanie, że ilość i biodostępność żelaza dostarczanego w formie liposomalnej, przy nikłym udziale żelaza pochodzącego z mleka matki, jest wystarczająca do zaspokojenia potrzeb erytropoetycznych młodych prosiąt i ich prawidłowego rozwoju (publikacja A.3);
6. wskazanie na znacznie mniejsze nasilenie występowania stresu oksydacyjnego u prosiąt suplementowanych żelazem liposomalnym w porównaniu ze zwierzętami poddanymi procedurze iniekcji domięśniowej dekstranem żelaza (publikacja A.3);

Podsumowując, należy podkreślić dużą dojrzałość Doktoranta oraz daleko posuniętą ostrożność w wyciąganiu wniosków podczas ich formułowania, a także wskazanie, że przynajmniej część badań powinna zostać przeprowadzona na większej grupie osobników. Recenzentowi, mającemu powiązania zawodowe z medycznymi aspektami biotechnologii, zabrakło w pracy rozwinięcia myśli podjętej na początku pracy, a związanej z możliwością wykorzystania modelu świni w badaniach związanych z IDA u ludzi. Z punktu widzenia recenzenta ważnym jest natomiast fakt umiejętnego dyskusowania uzyskanych w badaniach wyników i wyciągniętych na ich podstawie wniosków na tle ogólnoswiatowej literatury zagadnienia. Mgr inż. Mateusz Szudzik drobiazgowo przedstawia własne spostrzeżenia i wnioski podpierając je danymi z innych publikacji własnych (jeszcze nieopublikowanych) oraz innych autorów. Uzyskane w pracy wyniki mają niewątpliwie charakter użyteczny i powinny znaleźć odzwierciedlenie w praktyce. Pojawia się zatem pytanie w jaki sposób skutecznie wdrożyć wyniki badań w praktykę.

Wniosek końcowy

W podsumowaniu, rozprawa doktorska pana mgr. inż. Mateusza Szudzika pt. „**Wpływ suplementacji mieszanej prosiąt żelazem na metabolizm tego mikroelementu, rozwój osobniczy i jakość tuszy u świń rasy wbp i linii 990**” stanowi spójny tematycznie zbiór trzech



artykułów naukowych zebranych i podsumowanych w załączonym autoreferacie, zgodnie z wymaganiami stawianymi tego typu opracowaniom, a sama praca ma charakter aplikacyjny. Wiedza Doktoranta z zakresu podejmowanej w artykułach tematyki jest rozległa i ugruntowana, o czym świadczy sposób i jakość podawanych i opisywanych informacji, a warsztat badawczy zasługuje na szczególne uznanie. Wszystkie przedstawione prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach o wysokim IF.

Pragnę zaznaczyć, iż wskazane w recenzji uchybienia mają charakter sugestii i przyczynku do przemyśleń podczas prezentowania wyników w przyszłości. Włożoną w uzyskanie wyników pracę oceniam wysoko. Przedstawiona do oceny rozprawa mgr. inż. Mateusza Szudzika spełnia wszystkie wymagania określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 z 2003 r., poz. 595, wraz z późn. zm). Zwracam się zatem do Rady Naukowej Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu (poprzednio Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN) o dopuszczenie pana mgr. inż. Mateusza Szudzika do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publiczną obronę pracy. Mając na uwadze wysoką ocenę rozprawy oraz nową dla nauki wiedzę o dużym i utylitarnym potencjale - zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jan Szudzik', written in a cursive style.