



OCENA ŚRÓDOKRESOWA DOKTORANTA SZKOŁY DOKTORSKIEJ W UNIwersYTECIE PRZYRODNICZYM WE WROCLAWIU

Przeprowadzona dnia 5 września 2024 r.

przez Komisję ds. oceny śródkresowej w dyscyplinie weterynaria w składzie:

Przewodniczący:

prof. dr hab. Łukasz Adaszek, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Członkowie:

1. dr hab. Michał Załęcki, prof. uczelni, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
2. dr hab. Magdalena Żmigrodzka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Imię i nazwisko doktoranta:	Patrycja Kalak
Promotorzy:	dr hab. Michał Dzieciół, prof. Uczelni
Temat rozprawy doktorskiej:	Ocena wpływu kannabidiolu (CBD) na wybrane funkcje układu rozrodczego (badania <i>in vivo</i> i <i>in vitro</i>) oraz analiza ekspresji receptorów kanabinoidowych w układzie rozrodczym i gruczole mlekowym na modelu psa domowego

I. Ocena postępów w realizacji indywidualnego planu badawczego:
Ocena Komisji: Pozytywna/negatywna
Uzasadnienie oceny: Przedstawiony do oceny projekt, mający na celu weryfikację wpływu kannabidiolu (CBD) na wybrane funkcje układu rozrodczego oraz analizę ekspresji receptorów kannabinoidowych w układzie rozrodczym i gruczole mlekowym na modelu psa domowego, zgodnie z przedstawionym opisem wymaga precyzyjnego pobrania bardzo dużej liczby prób od możliwie homogennych osobników, odpowiedniego ich przygotowania i przeprowadzenia bardzo wielu złożonych, a jednocześnie pracochłonnych analiz <i>in vivo</i> oraz <i>in vitro</i> . Komisja nie jest w stanie precyzyjnie odnieść się do stopnia realizacji zadań oraz oceny uzyskanych wyników, ponieważ przedstawione zapisy nie są precyzyjne i mówią jedynie o „przeprowadzeniu badań wstępnych <i>in vitro</i> poziomu receptorów w tkankach rozrodczych w fazie anoestrus”. Niestety w sprawozdaniu nie przedstawiono również szczegółów

dotyczących wyników z innych wykonanych zadań, w tym badań *in vivo* (zapis z tabeli informuje jedynie, że „wykonano pierwsze badanie kannabidiolu na sekrecję P4 *in vivo*”).

Niemniej jednak na podstawie zapisów przedstawionych w tabeli zadania zaplanowane na rok 2022/2023 zostały zrealizowane, a także częściowo zrealizowano zadania zaplanowane na rok 2023/2024, a stopień zaawansowania rozprawy doktorskiej określono na 40%.

Załączona dokumentacja pozwala potwierdzić Komisji, że w czasie realizacji doktoratu:

- a) Został przygotowany wniosek do Lokalnej Komisji Etycznej i uzyskano zgodę na przeprowadzenie badań
- b) Zostały przygotowane i złożone wnioski grantowe:
 - NCN Preludium 22 - odrzucony
 - NCN Opus 26 - odrzucony
 - NCN Preludium 23 – w trakcie realizacji
 - UPWr – Wewnętrzny Projekt Badawczy – finansowanie 60 tys zł
- c) Doktoranta ukończyła szkolenie dla osób uczestniczących w wykonywaniu procedur i osób wykonujących procedury na zwierzętach (w tym wyznaczenie)
- d) Doktorantka ukończyła dwudniowy kurs podstaw izolacji RNA i q-PCR
- e) Utrzymywana jest stała współpraca z Zakładem patologii Ogólnej i doświadczalnej UMed Wrocław (doktorantka aktywnie uczestniczyła w 2 spotkaniach)
- f) Opracowano technikę zakładania linii komórkowych z ciała żółtego psa
- g) Został przygotowany artykuł przeglądowy, który jest w wewnętrznej recenzji

Podsumowanie:

Komisja ocenia pozytywnie kompetencje doktorantki w obszarze opracowywania wniosków grantowych oraz uzyskiwania finansowania na realizację badań w ramach wewnętrznego Projektu Badawczego UPWr.

W związku z brakiem przedstawienia wyników poszczególnych zadań oraz nieprecyzyjnym opisem informującym zaledwie o wykonaniu „pierwszych / wstępnych” analiz bardzo obszernych badań, jak również brakiem informacji o prezentacji uzyskanych wyników w postaci doniesień kongresowych, Komisja swoją pozytywną ocenę opiera na podstawie zapisów przedstawionych w tabeli jako zrealizowane oraz na podstawie pozytywnej opinii promotora.

Na podstawie przedstawionych w tabeli zapisów o zrealizowaniu zaplanowanych w IBD zadań i określonego stopnia postępu zaawansowania rozprawy doktorskiej określonego na 40% Komisja zakłada, że doktorat może zostać zrealizowany w terminie, jednak do pełnego potwierdzenia wymagane jest dołączenie precyzyjnych opisów wykonanych zadań i uściślenie podanych wyników (np. jakie grupy zostały przebadane).

II. Ocena realizacji programu kształcenia, stanu zaawansowania badań naukowych i postępu prac w przygotowaniu rozprawy doktorskiej:

Ocena Komisji:

Pozytywna/negatywna

Uzasadnienie oceny:

Zgodnie z przedstawioną dokumentacją doktorantka w przeciągu ocenianych 4 semestrów odbyła praktyki zawodowe realizowane w programie kształcenia poprzez:

- a. uczestnictwo w prowadzeniu zajęć z przedmiotu: Rozród Zwierząt: 8h; I-II.2023
- b. odbycie stażu klinicznego – tematyka: pobieranie nasienia; wykonanie cytologii pochwy; badanie USG układu rozrodczego samca i samicy psa: 8h; V-VI.2023
- c. uczestnictwo w prowadzeniu zajęć z przedmiotu Rozród Zwierząt i staże kliniczne; 33h; I.2024

W ramach samodoskonalenia naukowego doktorantka:

- a) odbyła spotkanie z PAN Olsztyn: XI.2022
- b) dwukrotnie uczestniczyła w spotkaniu naukowym z Zakładem Patologii Ogólnej i doświadczalnej UMed Wrocław: IX.2023; I.2024
- c) ukończyła dwudniowy kurs podstaw izolacji RNA i q-PCR: 25-26.II.2024

Załączona dokumentacja pozwala ponadto potwierdzić Komisji, że w czasie realizacji doktoratu:

- d) Został przygotowany wniosek do Lokalnej Komisji Etycznej i uzyskano zgodę na przeprowadzenie badań
- e) Zostały przygotowane i złożone wnioski grantowe:
 - NCN Preludium 22 - odrzucony
 - NCN Opus 26 - odrzucony
 - NCN Preludium 23 – w trakcie realizacji
 - UPWr – Wewnętrzny Projekt Badawczy – finansowanie 60 tys zł
- f) Doktoranta ukończyła szkolenie dla osób uczestniczących w wykonywaniu procedur i osób wykonujących procedury na zwierzętach (w tym wyznaczenie)
- g) Utrzymywana jest stała współpraca z Zakładem patologii Ogólnej i doświadczalnej UMed Wrocław
- h) Opracowano technikę zakładania linii komórkowych z ciałka żółtego psa
- i) Został przygotowany artykuł przeglądowy, który jest w wewnętrznej recenzji

Podsumowanie:

Komisja pozytywnie ocenia umiejętności doktorantki związane z przygotowywaniem wniosków grantowych oraz zdobycie finansowania na prowadzone badania w wewnętrznym Projekcie Badawczym UPWr. Pozytywnie oceniona została również zdolność doktorantki do przygotowania dokumentacji wymaganej do uzyskania zgody Komisji Etycznej na przeprowadzenie doświadczeń na zwierzętach.

Komisja nie jest w stanie precyzyjnie ocenić stopnia realizacji zadań i uzyskanych wyników na podstawie przedstawionych informacji o przeprowadzeniu „badań wstępnych lub pierwszych”, ze względu na brak załączenia uzyskanych wyników oraz szczegółowych opisów technik badawczych.

Na podstawie przedstawionych w tabeli informacji dotyczących realizacji zaplanowanych w IBD zadań oraz określonego stopnia postępu zaawansowania rozprawy doktorskiej,

wynoszącego 40%, jak również pozytywnej opinii promotora, Komisja zakłada, że doktorat może zostać zrealizowany w wyznaczonym terminie. Jednakże, do pełnego potwierdzenia tego założenia niezbędne jest dołączenie precyzyjnych opisów wykonanych zadań oraz doprecyzowanie podanych wyników, w szczególności wskazanie, jakie grupy zostały przebadane.

I. Rozmowa z doktorantem

Ocena Komisji:
Pozytywna/negatywna

Uzasadnienie oceny:
Wystąpienie po angielsku. Doktorantka poprawnie przedstawiła podstawy działania systemu kannabinoidowego w układzie rozrodczym. Doktorantka opisała założenia pracy i przedstawiła cele do osiągnięcia. Wyniki badań wstępnych zostały zaprezentowane w sposób klarowny. Doktorantka sprawnie porusza się w tematyce dotyczącej części badań *in vivo*. W związku z opóźnionym uzyskaniem finansowania część badań zostanie zrealizowana dopiero w następnych latach.

OCENA KOŃCOWA

Pozytywna/negatywna

Uzasadnienie oceny: (min. 500 znaków)

Uzasadnienie oceny:
Przedstawiony do oceny projekt, zaplanowany do wykonania na psach, został podzielony przez autorów na dwa główne doświadczenia mające na celu: 1) określenia wpływu kannabidiolu na wydzielania progesteronu przez ciało żółte poprzez metody *in vitro* oraz *in vivo*; 2) identyfikacji i analizie ekspresji receptorów CBD1 i CBD2 w bardzo wielu rodzajach tkanek: macicy, jajnikach zdrowych dorosłych suk różnych ras w metoestrus (n=10) i anoestrus (n=10); dorosłych samic cierpiących na „zaburzenia macicy” (n=10), samic niedojrzałych płciowo (n=10) oraz w guzach nowotworowych gruczołów sutkowych [w tym porównanie ekspresji w nowotworach łagodnych i złośliwych, a także w zależności od typu i stopnia zaawansowania nowotworu (n=60)]. Ta część badań została zaplanowana do przeprowadzenia bardzo zróżnicowanymi, a zarazem praco- i czasochłonnymi metodami: qPCR (RT-qPCR?), mikroskopii konfokalnej, western blott.

Niestety w przedstawionej dokumentacji, jak i w sprawozdaniu nie przedstawiono szczegółów zaplanowanych metodyk, a odniesiono się wyłącznie do opublikowanego artykułu Kupczyk et al z 2022 roku w którym badano wskazane receptory w skórze koni. Każda z tych metod badawczych wymaga odpowiedniego pobierania materiału, jego właściwego przygotowania i wielu precyzyjnie dobranych parametrów, których niedopełnienie może uniemożliwić uzyskanie właściwych wyników. Samo pobieranie materiału musi zostać precyzyjnie zaplanowane, gdyż powszechnie znane jest zjawisko występowania różnej ekspresji substancji biologicznie czynnych w różnych częściach tego samego narządu – a ilości materiału wymagane do analizy qPCR czy western blott są precyzyjnie określone i niewielkie – więc trzeba bardzo precyzyjnie określić miejsce pobrania materiału, by w powtarzalny sposób pobierać go od każdego badanego

osobnika / z każdej tkanki. Co więcej, każda z zaplanowanych technik wymaga innego sposobu utrwalenia próbek, więc należy odpowiednio zaplanować podział pobranych tkanek by wyniki nimi uzyskane były zbieżne. Nie mniej istotne jest przedstawienie szczegółów analiz, które mają ogromny wpływ na sposób prowadzenia badań oraz ilość koniecznych analiz.

Liczba prób zaplanowanych do badania tego typu technikami jest również znaczna, a samo skompletowanie tak dużej liczby prób, które będą stanowiły możliwie homogenne grupy (co jest niezbędne by wyniki dało się przeanalizować z prawdopodobieństwem uzyskani istotności statystycznej) jest nie lada wyzwaniem.

Niemniej jednak na podstawie zapisów przedstawionych w tabeli zadania zaplanowane na rok 2022/2023 zostały zrealizowane, a także częściowo zrealizowano zadania zaplanowane na rok 2023/2024. Komisja nie jest w stanie precyzyjnie odnieść się do stopnia realizacji zadań na podstawie zapisów o wykonaniu wstępnych / pierwszych analiz, ponieważ takie zapisy są nieprecyzyjne i mogą odnosić się do przebadania całych grup zwierząt, albo wykonania pojedynczych testów.




Podsumowanie:

Komisja wyraża pozytywną opinię na temat umiejętności doktorantki w zakresie przygotowywania wniosków grantowych (uzyskanie finansowania na prowadzenie badań w ramach wewnętrznego Projektu Badawczego UPWr) oraz wniosków wymaganych do uzyskania zgody Komisji Etycznej. Komisja pozytywnie ocenia również odbycie przez doktorantkę szkoleń wymaganych do wykonywania procedur i na zwierzętach (w tym uzyskanie wyznaczenia).

W związku z brakiem przedstawienia wyników poszczególnych zadań oraz nieprecyzyjnym opisem informującym jedynie o przeprowadzeniu „wstępnych / pierwszych” badań w ramach bardzo rozbudowanych eksperymentów, a także brakiem informacji na temat prezentacji uzyskanych wyników w formie doniesień kongresowych czy publikacji, Komisja opiera swoją pozytywną ocenę na podstawie danych zawartych w tabeli jako zrealizowane oraz na pozytywnej opinii promotora, który jest bezpośrednio odpowiedzialny za realizację doktoratu i posiada najpełniejszą wiedzę na temat jego postępów.

W związku z powyższym Komisja zakłada, że obrona pracy doktorskiej zostanie zakończona zgodnie z planowanym terminem, jednak nie może tego jednoznacznie potwierdzić.

Podpisy członków komisji:

1. .....
2. .....
3. .....