

dr hab. Paweł Brzęk, prof. UwB
Katedra Ekologii Ewolucyjnej i Fizjologicznej
Wydział Biologii
Uniwersytet w Białymstoku

Białystok, 20.9.2024

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Agaty Bury pt.
‘The relationship between hematological parameters and metabolic rates in birds’
przygotowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Mariusza Cichonia i dr Edyty Sadowskiej w
Instytucie Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego

Temat rozprawy doktorskiej mgr Agaty Bury jest dokładnie opisany w samym jej tytule – zajmuje się ona wpływem zmienności tempa metabolizmu na parametry hematologiczne krwi u ptaków. Okresy zwiększonego zapotrzebowania na energię mogą wiązać się z koniecznością dostarczania przez krew większej ilości tlenu do tkanek, co powinno powodować zmiany właściwości krwi zwiększające jej zdolność do przenoszenia tlenu. Jednak nasza znajomość zmienności i plastyczności parametrów hematologicznych krwi jest niewystarczająca, szczególnie w perspektywie ekologicznej i ewolucyjnej (można raczej powiedzieć że nasza wiedza jest całkiem duża ale bardzo nierównomiernie rozmieszczona na drzewie filogenetycznym). Mgr Bury słusznie zauważyła że ptaki są dobrym modelem do badań plastyczności parametrów hematologicznych krwi, gdyż w ich życiu pojawiają się okresy podwyższonego zapotrzebowania na energię jak migracje lub karmienie piskląt, a chociaż są one endotermami podobnie jak ssaki, różnią się jednak od nich wieloma istotnymi cechami, w tym posiadaniem erytrocytów z jądrem. Z tego powodu porównanie ptaków i ssaków może być ważne dla zrozumienia ograniczeń związanych z ewolucją stałocieplności.

W swej pracy mgr Bury zbadała trzy sytuacje w których ptaki mają zwiększone zapotrzebowanie na energię i wyższy metabolizm tlenowy: wysiłek fizyczny, termoregulacja w niższej temperaturze otoczenia i reprodukcja. Każda z tych sytuacji była obiektem osobnego eksperymentu, i w każdym z nich zbadano te same parametry krwi. Dla ułatwienia trzy z nich będę nazywał zbiorczo ‘parametrami hematologicznymi’ i określają one zdolność krwi do przenoszenia jak największej ilości tlenu – są to hematokryt, stężenie hemoglobiny i zagęszczenie erytrocytów. Osobnym parametrem jest wielkość erytrocytów, która charakteryzuje zdolność krwi do szybkiego oddawania tlenu. Jak podkreśla Autorka, ten ostatni parametr zwykle bywa pomijany w podobnych badaniach. Ogólnie w warunkach

większego zapotrzebowania na tlen możemy oczekiwać wyższych wartości parametrów hematologicznych i mniejszych rozmiarów erytrocytów.

W eksperymencie 1 Autorka zbadała wpływ treningu (6 tygodni wymuszonego latania) i ćwiczeń (5 minut ciągłego lotu) na parametry krwi u zeberek. Trening obniżał wartość parametrów hematologicznych ale nie zmieniał wielkości erytrocytów. Ćwiczenia zwiększały hematokryt i stężenie hemoglobiny, nie miały wpływu na zagęszczenie erytrocytów, jednak zmniejszały one ich średni rozmiar. Pomiędzy efektem treningu i ćwiczeń nie było istotnej interakcji. W eksperymencie 2 Autorka zbadała wpływ 6 tygodni aklimacji do 32 °C (strefa termoneutralna) lub 12 °C u zeberek. Aklimacja do niższej temperatury obniżała parametry hematologiczne ale nie zmieniała wielkości erytrocytów. Eksperyment 3 został wykonany na innym gatunku – sikorze bogatce, i był oparty na eksperymentalnej manipulacji wielkością lęgu w warunkach naturalnych. Ptaki karmiące zmniejszone lęgi miały wyższe wartości parametrów hematologicznych ale rozmiary erytrocytów nie uległy zmianie. Dla większości parametrów znaleziono także istotny efekt płci lub roku badań.

Opis metod oraz wyniki dwóch pierwszych eksperymentów nie wzbudzają żadnych wątpliwości, mam jednak kilka uwag do eksperymentu III. W jego opisie brakuje podstawowych informacji – w jakim wieku dokonano wymiany piskląt oraz ile wynosiła średnia liczba piskląt w lęgach kontrolnych, powiększonych i zmniejszonych. Wielkość lęgu była znana bo na jej podstawie dzielono gniazda na 'trójki', jednak czytelnik wie tylko tyle że oryginalna wielkość lęgu została zmieniona o 'plus 3 lub 4' lub 'minus 3 lub 4' piskląta. Taki zabieg to coś innego dla lęgu złożonego z 11 piskląt, coś innego dla lęgu złożonego z 7 piskląt. Na stronie 18 znajduje się opis: 'If hatchling number was twelve or larger four nestlings were cross fostered'. Oznacza że to że jeśli w lęgu było 12 lub 13 piskląt to powiększano lęgi do 16-17. To bardzo dużo i czy nie jest to większa liczba niż w typowych eksperymentach z manipulacją wielkością lęgu? W pracy nie ma również jakichkolwiek pomiarów wielkości ciała piskląt, a wyniki takie mogą być bardzo ważne dla oceny strategii rodziców. Istnieją opublikowane wyniki eksperymentalnych manipulacji wysiłku rodzicielskiego u ptaków w których rodzice nie ponosili widocznych kosztów ale ich pisklęta były w gorszej kondycji – rodzice po prostu przerzucali koszty na potomstwo. W eksperymencie opisanym przez Autorkę manipulacja wielkością lęgu nie miała wpływu na masę ciała ptaków dorosłych co może świadczyć że nie zmieniały one intensywności karmienia proporcjonalnie do zmiany wielkości lęgu (a wydaje się że lęgi pomniejszone mogły być o połowę mniejsze od powiększonych, choć jak zaznaczyłem w pracy niestety nie ma informacji o wielkości badanych lęgów). Myślę że to jest właśnie to co Autorka miała na myśli pisząc na stronie 30 że zwiększenie lęgu nie zmieniło wysiłku rodziców w porównaniu do grupy kontrolnej – ale w takim razie powinno to być widoczne w masie piskląt. Nie jest też jasne dlaczego odróżniano pisklęta pochodzące z innego gniazda poprzez obcinanie pazurków – po co skoro wszystkie pisklęta były następnie traktowane tak 'anonimowo' że nie podaje się nawet ich liczby? Myślę że Autorka posiada dane o wielkości lęgu oraz masie piskląt i powinny one znaleźć się w przygotowywanej publikacji, szkoda jednak że nie ma ich też w rozprawie doktorskiej.

Wyniki wszystkich trzech eksperymentów pokazują że w warunkach większego zapotrzebowania na energię (czyli zapewne także na tlen), parametry hematologiczne krwi paradoksalnie zmniejszają się, natomiast wielkość erytrocytów nie zmienia się. Wyjątkiem jest krótkotrwały wysiłek który podnosił parametry hematologiczne u zeberek. Autorka tłumaczy to tym że skuteczność dostarczania tlenu do tkanek zależy nie tylko od ilości hemoglobiny lecz także od zmian lepkości krwi, opartych na zmianach gospodarki wodnej organizmu (chyba tylko taki mechanizm może wytłumaczyć to że istotne zmiany w wielkości erytrocytów w eksperymencie 1 pojawiły się już po 5 minut lotu, co sama Autorka przyznaje na stronie 33). W odróżnieniu od ptaków, erytrocyty ssaków nie posiadają jąder i dlatego są bardziej elastyczne niż erytrocyty ptaków, co powoduje że ssaki mogą zwiększać ich zagęszczenie bez pogorszenia przepływu krwi.

Ciekawa jest też konkluzja że rozmiary erytrocytów nie zmieniają się pomimo dużych, długoterminowych zmian w tempie metabolizmu, choć eksperyment 1 pokazał że takie zmiany są możliwe w bardzo krótkim czasie. Ta niezmiennosc kontrastuje z wynikami badań u innych grup lądowych kręgowców. Może z tego wynikać wniosek że parametry hematologiczne są plastyczne i optymalizowane do aktualnych potrzeb, za to wielkość erytrocytów jest stała i z góry zoptymalizowana do wysokiego tempa metabolizmu. Niska plastyczność wielkości erytrocytów może wynikać także ze stosunkowo małej ilości cytoplazmy (ptasie erytrocyty nie tylko posiadają jądro ale jest ono stosunkowo duże) co obniża potencjał do zmian wielkości komórek (tu pytanie – czy nie ma bardziej aktualnych publikacji badających relatywne rozmiary jąder w erytrocytach ptaków niż praca z 1875 roku? Przecież rozmiary komórek u różnych grup organizmów to temat który był dość intensywnie badany w ostatnich kilkunastu latach).

Rozprawa doktorska mgr Bury jest bardzo krótka. Trzeba tu jednak podkreślić że recenzowana praca zawiera wyniki trzech niezależnych eksperymentów, z których dwa stały się już tematem oddzielnych publikacji, a trzecia publikacja jest w przygotowaniu, co nie odbiega od typowych rozpraw doktorskich. Jest kilka wyjaśnień tej zwięzłości – praca opisuje trzy proste eksperymenty które badały dokładnie ten sam problem w trzech różnych kontekstach i przy zastosowaniu takiej samej metodologii pomiaru tych samych parametrów krwi. W dodatku wszystkie trzy eksperymenty przyniosły praktycznie identyczne wyniki, co ułatwia (i skraca) omówienie wynikających z nich wniosków. Innym powodem może być to że w dyskusji bardzo często okazywało się że wyniki uzyskane przez Autorkę odbiegały od wyników podobnych, wcześniejszych badań. Jak Autorka słusznie podkreśla może to wynikać z tego że wiele z tych prac nie opisywało wyników badań eksperymentalnych (lub warunki eksperymentalne mogły różnić się od tych zastosowanych w obecnej pracy), co mogło powodować duży wpływ zmienności warunków naturalnych na wyniki badań. Rzeczywiście, eksperyment 3 przeprowadzony w warunkach naturalnych znalazł bardzo duże różnice między latami nawet w rozmiarach erytrocytów, a więc zmiennej która była bardzo ‘odporna’ na celowe zabiegi eksperymentalne. Utrudnia to jednak przedyskutowanie uzyskanych wyników w świetle dotychczasowej znajomości badanego problemu, ale nie jest to oczywiście wina Autorki.

Niewielkie rozmiary rozprawy i jej zwięzłość sprawiają że również jej recenzja nie może być długa. Podkreślam jeszcze raz że niewielkie rozmiary pracy nie są jej wadą – gdyby było to możliwe, powinna ona składać się z trzech manuskryptów których łączna długość nie byłaby dużo większa. Nie jestem zwolennikiem rozpisywania się bez potrzeby, a obecna rozprawa w jasny sposób przedstawia badany problem, użyte metody, uzyskane wyniki i wnioski jakie można wyciągnąć z tych wyników. Muszę jednak zaznaczyć że w kilku miejscach Autorka mogłaby lepiej omówić pewne ważne problemy. Brakuje mi na przykład jasnego zdefiniowania różnicy między krótko- i długoterminowym wysiłkiem fizycznym u ssaków i ptaków. Jest to ważne gdyż jak się okazuje ich wpływ na parametry hematologiczne krwi może być odmienny, a np. lot ptaków może należeć do obu kategorii i jest następnie porównywany do wysiłku ssaków które nie latają. Można by również napisać trochę więcej o koncepcji symmorfozy lub ogólnie o znaczeniu plastyczności parametrów hematologicznych (koszty vs zyski) oraz zastanowić się dlaczego rozmiary erytrocytów są jedynym parametrem który nie wykazuje wyraźnej plastyczności w odpowiedzi na manipulacje tempem metabolizmu. Ostatni problem jest szczególnie interesujący: z jednej strony dyskusja zawiera rozważania na temat ewolucyjnych i konstrukcyjnych ograniczeń plastyczności rozmiarów erytrocytów u ptaków (strona 33), z drugiej strony okazuje się że te ograniczenia może przełamać po prostu większa liczba gąsienic w lesie (strona 30). Wiem że Autorka nie mogłaby podać jednoznacznego rozwiązania tego paradoksu ale warto go zauważyć bo jest uderzający.

Nie mam większych uwag do stylu pracy. W tekście znajduje się trochę niepotrzebnych powtórzeń – np. pierwszy akapit rozdziału 5 na stronie 19 powtarza większość informacji dwa razy, również figura 1 i tabela 1 na stronie 22 pokazują te same wyniki. W tekście i cytowaniach pojawiają się tylko drobne błędy (np. na stronie 31 jedno zdanie wydaje się ucięte w połowie - 'sufficient amount of substrates, such as (Swanson 1991)').

W podsumowaniu, rozprawa mgr Bury stanowi spójny zbiór wyników trzech eksperymentów, badających ważny problem ekologii fizjologicznej. Zdecydowanie najważniejszą zaletą tej pracy jest to że ta sama metodologia została użyta do zbadania parametrów krwi w kontekście różnych czynników ekologicznych wpływających na tempo metabolizmu i zużycie tlenu przez tkanki. Umożliwia to (w połączeniu z uderzającą zgodnością wyników wszystkich eksperymentów!) wyciągnięcie dobrze uzasadnionych wniosków na temat wpływu zmienności tempa metabolizmu na parametry krwi u ptaków a także bardziej ogólnych wniosków na temat ewolucji fizjologii kręgowców. Z dyskusji jasno wynika że dotychczasowy stan badań (stosunkowo nieliczne prace przy użyciu różnych metod) w zasadzie uniemożliwiał wyciąganie takich bardziej ogólnych wniosków. Mogę dodać refleksję że wyniki trzech eksperymentów wchodzących w skład tej rozprawy razem z wynikami innych badań parametrów hematologicznych krwi w różnych grupach kręgowców wykonanych przez tę samą grupę autorów mogą stać się tematem bardzo ciekawej pracy zbiorczej/przeglądowej na temat fizjologicznych podstaw (i ograniczeń) ewolucji tempa metabolizmu oraz cech historii życia u kręgowców.

Podsumowując, uważam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w artykule 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595; z 2005 r. Nr 164, poz. 1365; z 2010 r. Nr 96, poz. 620, Nr 182, poz. 1228; z 2011 r. Nr 84, poz. 455) i zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani mgr Agaty Bury do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.



dr hab. Paweł Brzęk, prof. UwB