



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Dr hab. n. med. Marta Sobas

Wrocław, 28 lipca 2023 r.

Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi

i Transplantacji Szpiku

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Recenzja

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Burek

pt. „Wybrane parametry hematologiczne i biochemiczne we krwi psów z chorobą nowotworową”

(„Selected hematological and biochemical parameters of blood in dogs with cancer”)

W wykonaniu uchwały nr 16.2023.NB Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 20 czerwca 2023 r., przedkładam recenzję rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Burek pt. „Wybrane parametry hematologiczne i biochemiczne we krwi psów z chorobą nowotworową” przygotowanej pod kierunkiem naukowym prof. nadz. Wojciecha Kruszyńskiego oraz prof. nadzw. Stanisława Dzimiry.

Nowotwory stanowią jedną z najważniejszych chorób cywilizacyjnych zarówno wśród ludzi jak i zwierząt. Od połowy lat 60 tych XX wieku, liczba zachorowań i zgonów nowotworowych w polskiej populacji zwiększyła się około 2,5 razy. Sytuacja ta związana jest z wydłużeniem życia oraz okresu narażenia na tzw. czynniki ryzyka (<https://onkologia.org.pl/pl/epidemiologia/nowotwory-zlosliwe-w-polsce>). Towarzyszące człowiekowi zwierzęta, między innymi psy, narażone są na podobne czynniki. Pogłębianie wiedzy na temat patofizjologii chorób nowotworowych stwarza możliwości odkrywania nowych terapii. Terapie te jednak, w początkowych etapach rozwoju, wymagają testowania na zwierzętach laboratoryjnych. Podobieństwo genomów psa i człowieka przemawia za tym, żeby sięgać po psie modele guzów w opracowaniu i testowaniu nowych metod



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

leczenia. W medycynie porównawczej istotne jest wczesne wykrycie procesu nowotworowego u zwierzęcia. Niestety na chwilę obecną wiedza w tym zakresie jest uboga. Dlatego w mojej ocenie tematyka podjęta przez Doktorantkę jest bardzo aktualna i ważna. Dodatkowo o znaczeniu problemu może świadczyć fakt, że w 2004 roku w Stanach Zjednoczonych utworzono konsorcjum Onkologii Porównawczej i Genomiki Psów. Rozwój medycyny porównawczej wniesie wiele korzyści w rozwoju terapii stosowanej zarówno u ludzi jak i u zwierząt.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska to monografia zawierająca 130 stron maszynopisu i składająca się z następujących części: streszczenia w językach polskim i angielskim, wstępu, celu pracy oraz większych części zatytułowanych: „Materiał i Metody”, „Omówienie Wyników”, „Dyskusja”, „Podsumowanie”, „Wnioski” i „Bibliografia”. Piśmiennictwo składa się z 203 pozycji opublikowanych w latach 1983–2022.

We wstępie Doktorantka przedstawiła dane na temat nowotworów u ludzi, omówiła znaczenie psa jako modelu w badaniach nad nowotworami u ludzi, scharakteryzowała nowotwory wśród psów, omówiła mechanizmy nowotworzenia oraz obecnie dostępną wiedzę na temat potencjalnych markerów nowotworów u zwierząt (ze szczególnym uwzględnieniem stresu oksydacyjnego i systemów naprawczych organizmu).

Cele pracy zostały jasno i przejrzysto sformułowane. Głównym celem było sprecyzowanie przydatnych w medycynie porównawczej badań laboratoryjnych, które służyłyby jako biomarkery wczesnego stadium choroby nowotworowej u zwierząt. Doktorantka ponadto porównała wyniki badań laboratoryjnych u zwierząt z chorobą nowotworową (czyli sutka i skóry) i zdrowych według rasy (pies rasowy i tzw. „mieszaniec”), wieku i masy ciała zwierzęcia, w zależności od typu nowotworu (rak sutka vs rak skóry) i charakteru zmiany (łagodna vs złośliwa).

W kwestii materiału i metod, Doktorantka przeprowadziła badanie wielośrodkowe, prospektywne. Badanie nie wymagało zgody Lokalnej Komisji Etycznej. Podczas rutynowych wizyt pobierano krew od osobników z chorobą nowotworową (guzy łagodne i złośliwe; nowotwór sutka i skóry) oraz od zwierząt stanowiących grupę kontrolną. Zmiany podejrzane o nowotworowe usuwano chirurgicznie i przekazywano do analizy histopatologicznej po uzyskaniu zgody właściciela. Doktorantka szczegółowo, wykazując się dużą znajomością tematu, opisała techniki oznaczania parametrów hematologicznych i biologicznych. Analiza statystyczna przeprowadzona została



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

w programie R 4.2.2. Istotność statystyczną określono jako $p < 0.05$. Analizę przeprowadzono w pięciu podgrupach: psy rasowe vs rasy mieszane, ze względu na wiek, masę ciała, umiejscowienie i rodzaj nowotworu. Ze względu na niską liczebność niektórych grup przeprowadzono analizę parami z założeniem, że są niezależne.

W wynikach Doktorantka przedstawiła bardzo ciekawe obserwacje:

Pierwsza: stwierdzono obniżone (norma wg Winnickiej) stężenie albuminy u psów z chorobą nowotworową w porównaniu do psów zdrowych. Albumina jako silny antyoksydant odpowiedzialna jest w ponad 70% za wychwyt wolnych rodników, który jest zaburzony w chorobach nowotworowych. Dodatkowo Doktorantka wykazała, że różnica w stężeniach albuminy była większa między psami zdrowymi a psami z guzami łagodnymi w porównaniu z różnicą między psami zdrowymi a psami z guzami złośliwymi. Doktorantka porównała wyniki swojej analizy z publikacją Oliveira i wsp., gdzie zaobserwowano wyższe stężenie albuminy w początkowej fazie choroby. Na chwilę obecną nie są dostępne inne publikacje na ten temat. Kolejnym argumentem potwierdzającym zmniejszoną zdolność antyoksydacyjną organizmu z chorobą nowotworową jest zmniejszone stężenie bilirubiny.

Druuga: zaobserwowano, że całkowity status antyoksydacyjny (TAS), jako marker określający całkowitą zdolność przeciwdziałania reaktywnym formom tlenu lub azotu w organizmie, był niższy u psów z nowotworami o charakterze złośliwym. Doktorantka porównuje otrzymane wyniki z badaniami zrealizowanymi na psach (dużą różnorodność nowotworów) jak i u ludzi (nowotwory płuc i piersi). Doktorantka zwraca uwagę na fakt, iż niska aktywność enzymów antyoksydacyjnych przyczynia się do rozwoju stresu oksydacyjnego (TOS) i progresji zmian nowotworowych. Doktorantka następnie wykazała różnice w aktywności dwóch głównych enzymów antyoksydacyjnych (reduktazy glutationowej oraz peroksydazy glutationowej) u psów zdrowych i z chorobą nowotworową. Wyniki przedstawione przez Doktorantkę są jednymi z pierwszych, na chwilę obecną w medycynie weterynaryjnej nadal brakuje badań na temat stresu oksydacyjnego na większych i jednorodnych grupach zwierząt.

Trzecia: u zwierząt z procesem nowotworowym obserwowane są zaburzenia w stężeniach takich pierwiastków jak magnez, wapń, żelazo i miedź. Najciekawsze są zmiany w stężeniu miedzi, ponieważ jej wyższe poziomy obserwowane są u zwierząt z chorobą nowotworową (vs psy zdrowe).



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Czwarta: Doktorantka na podstawie wyników własnych i analizy literatury, sugeruje potencjalne zastosowanie dwóch białek antyapoptotycznych (surwiwina i kaspaza 9) jako potencjalnego markera chorób nowotworowych zarówno u ludzi jak i u zwierząt.

Piąta: Doktorantka zwraca uwagę na rutynowe wykonywanie morfologii u psów/zwierząt z podejrzeniem choroby nowotworowej. Jednym z najważniejszych zaburzeń stwierdzanych w morfologii zwierząt z chorobą nowotworową jest reaktywna nadpłytkowość. Zjawisko to jest również obserwowane u ludzi.

Szósta: w medycynie weterynaryjnej, w związku z dużą zmiennością międzygatunkową, konieczne są dalsze badania nad zakresami norm wielu parametrów morfologicznych i biochemicznych. Doktorantka podjęła się trudu analizowania badań laboratoryjnych według rasy, wieku i masy ciała psów. Sugeruje ona jednak konieczność dalszych badań na większej i homogenicznej grupie zwierząt.

Poniżej przedstawię uwagi, które nasunęły się podczas lektury rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Burek.

1. Doktorantka analizuje wyniki 37 psów z „nowotworem”, mimo że sama wcześniej w sekcji „Materiał i Metody” sprecyzowała, że tylko 25 z 37 psów miało przeprowadzone badanie histopatologiczne. Zastanawiam się na jakiej podstawie postawiono rozpoznanie nowotworu i jego typu (łagodny vs złośliwy) u pozostałych zwierząt. Doktorantka analizuje wyniki grupy zwierząt zdrowych vs z chorobą nowotworową, w której to łączy nowotwory łagodne i złośliwe. Rozumiem, że takie postępowanie związane było z małą ilością wyników badań histopatologicznych. Ponadto Doktorantka, będąc świadomą różnic między nowotworem łagodnym a złośliwym, przeprowadziła dodatkową analizę wszystkich parametrów laboratoryjnych psów z nowotworem łagodnym i złośliwym.
2. Analizowane grupy są małe i przedstawione wyniki wymagają weryfikacji na większej i lepiej scharakteryzowanej populacji zwierząt, co sama Doktorantka komentuje wielokrotnie.

Dodatkowo zwróciło moją uwagę kilka błędów edytorskich, które w żadnym stopniu nie umniejszają wartości pracy naukowej:



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

- na stronie 18: Doktorantka pisze o „żywych organoidach”, ale nie podaje definicji pojęcia
- na stronie 39: Doktorantka nie sprecyzowała jaki materiał biologiczny (domyślnie krew?) został pobrany od zwierząt z podejrzeniem procesu nowotworowego
- na stronie 73/Tabela 21, na stronie 74/Tabela 22, na stronie 76/Tabela 3, na stronie 77/Tabela 24, na stronie 83/Tabela 28, na stronie 84/Tabela 29, na stronie 86/Tabela 30, na stronie 87/Tabela 31 pojawiły się znaki ^{a, b, ab}, Doktorantka jednak nie wyjaśniła ich znaczenia pod tabelami.
- na stronie 91- przesunięcie akapitu
- na stronie 93- brak rozwinięcia skrótu RFT
- na stronie 109- brak podmiotu w zdaniu dotyczącym badań biochemicznych.

Reasumując: uważam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska w postaci monografii porusza aktualne i ważne kwestie dotyczące markerów laboratoryjnych chorób nowotworowych, zwłaszcza guza sutka wśród psów. Praca jest napisana starannie, dobrze rozplanowana Doktorantka, wykazując się dużą znajomością tematyki, dokonuje szeroko zakrojonej analizy wyników własnych, zestawiając je z uprzednio opublikowanymi badaniami. Jest świadoma ograniczeń przeprowadzonej analizy i wskazuje na konieczność dalszych badań na większych i lepiej sprecyzowanych grupach zwierząt.

W związku z powyższym uważam, iż przedstawiona mi do oceny rozprawa, spełnia warunki określone w art. 13. Ust.1 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789). Na tej podstawie wnioskuję o dopuszczenie mgr inż. Anny Burek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

Dr hab. n. med. Marta Sobas

dr hab. n. med. Marta Sobas
Specjalista Hematolog
2592310

