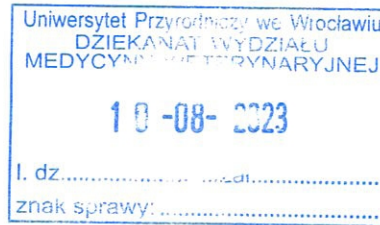


Olsztyn.27.07.2023

Dr hab. Anna Domośławska-Wyderska  
Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
UW-M w Olsztynie  
Ul. Oczapowskiego 14  
10-719 Olsztyn



## OCENA

pracy doktorskiej lek. wet. Barbary Granosik

pt. „Ocena skuteczności wybranych metod przedoperacyjnego leczenia nowotworów listwy  
mlecznej u suk”

Rozprawa doktorska lek. wet. Barbary Granosik oparta jest na monografii.

Badania nad zmianami w gruczole mlekowym w tym zmianami nowotworowymi są nadal niewystarczające i stanowią wyzwanie zarówno dla lekarzy praktyków jak i naukowców. Nowotwory listwy mlecznej występują najczęściej u suk starszych i nie zawsze kwalifikują się do usunięcia chirurgicznego. Na ich powstawanie mają wpływ nie tylko hormony, ale również dieta i predyspozycje rasowe. Diagnostyka nowotworów odgrywa istotną rolę w planowaniu terapii i wybraniu najlepszej drogi leczenia. Autorka pracy doktorskiej skupiła się na wykorzystaniu nowoczesnej metody obrazowania i diagnozowania jak elastografia oraz monitorowaniu zachowania się tkanki nowotworowej gruczołu mlekowego pod wpływem aglepristonu oraz alternatywnej metody terapeutycznej z wykorzystaniem zimnej plazmy atmosferycznej.

Oceniana praca doktorska obejmuje 120 strony maszynopisu, w tym 13 tabele i 8 rycin. Tekst pracy został podzielony w typowy sposób dla prac naukowych na rozdziały główne i podrozdziały, co ułatwia lekturę całej pracy. Układ redakcyjny rozprawy jest prawidłowy, jednakże należy uwzględnić kilka poprawek, co zostało zamieszczone w treści recenzji. W pracy, po stronie tytułowej, zamieszczono przejrzysty spis treści oraz wykaz skrótów co ułatwia rozumienie tekstu. Streszczenie w języku polskim i angielskim oraz bibliografię, spis rycin, i tabel zamieszczono na końcu pracy.

## **Wstęp.**

Wstęp rozprawy doktorskiej Autorka podzieliła na 5 podrozdziałów. Choroby gruczołu mlekowego omówiła wystarczająco zwięźle, koncentrując się na dotyczących pracy nowotworach. Wyczerpująco zacytowała dostępną literaturę odnośnie statystyk występowania nowotworów tego gruczołu zarówno u suk poddanych i nie owariohisterektomii w różnym wieku. Autorka opisała rolę hormonów i ich receptorów w gruczole mlekowym co jest istotne w diagnostyce tych zmian jak i dalszej terapii. Zwięźle omówiła diagnostykę nowotworów gruczołu mlekowego, opartą w pierwszej linii na biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, pozwalającej na zróżnicowanie zmian – łagodne czy złośliwe. Opisała wystarczająco szczegółowo wykorzystanie diagnostyki obrazowej jak badanie ultrasonograficzne i sonoelastograficzne. W podrozdziale „leczenie gruczołu mlekowego u suk” Autorka w sposób jasny i zwięzły opisała metody terapii takiej jak leczenie chirurgiczne, radioterapia, chemioterapia, terapia hormonalna oraz metody alternatywne z wykorzystaniem zimnej plazmy atmosferycznej. Dwie ostatnie metody były przedmiotem badań Autorki. Zastosowanie zimnej plazmy atmosferycznej (ZPA) jest obecnie tematem wielu prac naukowych, które Autorka cytuje.

**Cele pracy** zostały określone jasno i precyzyjnie, co jest niewątpliwym plusem tej dysertacji. Ocena wpływu aglepristonu na redukcję guza nowotworowego i pomiaru gęstości tkanki przy zastosowaniu badania elastograficznego do różnicowania guzów łagodnych i złośliwych stanowiło pierwszy cel. Drugim celem pracy była ocena skuteczności terapii nowotworów listwy mleczej u suk przy zastosowaniu zimnej plazmy atmosferycznej jako alternatywnej i nowej metody leczenia.

**Materiały i metody.** Rozdział ten jest tak samo jak cele omówiony jasno, tak że czytający pracę nie ma problemów ze zrozumieniem tego rozdziału. Materiał badawczy stanowiło 26 suk różnych ras będących pacjentami Katedry Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich na wydziale Medycyny Weterynaryjnej UP we Wrocławiu. Kwalifikacja zwierząt do grup badawczych odbyła się po wstępnej ocenie: grupę I stanowiły suki nie poddane zabiegowi owariohisterektomii, z poziomem progesteronu powyżej 5ng/ml co pozwoliło na zastosowanie u nich blokera receptorów tego hormonu- aglepristonu; grupę II stanowiły suki po wcześniejszym zabiegu owariohisterektomii, u których poziom progesteronu był poniżej 1 ng/ml. Nie kwalifikowano suk, u których występował stan zapalny gruczołu. Finalnie grupa I obejmowała 12 suk, a grupa II 14 suk.

Schemat doświadczenia jest opisany zwięźle dla każdej grupy. Obejmował wywiad, badanie kliniczne, badania cytologiczne wymazu pochwowego, pomiar zmian zlokalizowanych w obrębie gruczołu mlekowego, badania ultrasonograficzne narządu moczowo-płciowego, jamy brzusznej (w celu wykluczenia przerzutów) oraz gruczołu mlekowego, badania elastograficzne z użyciem fali poprzecznej, badanie RTG klatki piersiowej. Badania krwi objęły podstawową morfologię, biochemię (AST, ALT, UREA, CREA) oraz pomiar poziomu progesteronu. Wykonano badanie histopatologiczne zmian. Autorka wystarczająco dokładnie opisała procedurę naświetlania ZPA oraz analizowanie żywotności komórek w hodowli przy użyciu testu SRB.

W podrozdziale opisującym metody statystyczne Autorka użyła odpowiednich metod statystycznych w zależności od otrzymanych danych dla grup badawczych.

**Wyniki** otrzymane przez Autorkę zostały przedstawione szczegółowo i starannie. Struktura wyników jest przejrzysta. Wyniki pozwoliły na wyciągnięcie przez Autorkę odpowiednich wniosków. Dowiodła, że zastosowanie aglepristonu u suk nie poddanych owariohisterektomii i będących w fazie lutealnej przyczynia się do znacznej redukcji zmian nowotworowych, a tym samym do mniej inwazyjnego zabiegu chirurgicznego. Potwierdziła przydatność badania sonoelastograficznego w diagnostyce guzów nowotworowych listwy mleczej (bez różnicowania ich złośliwości), które to badanie już od dawna jest wykorzystywane w medycynie ludzkiej wielu narządów (m.in. gruczoł mlekowy, wątroba, tarczyca, gruczoł krokowy). Dodatkowo Autorka wykazała, iż zastosowanie aglepristonu oraz ZPA nie wpłynęło na wartości parametrów krwi u badanych suk. U badanych zwierząt Autorka nie wykazała skuteczności przeciwnowotworowej przy zastosowaniu ZPA zarówno w badaniach *in vivo* jak i *in vitro*, a także zjawiska selektywnego oddziaływania ZPA na komórki nowotworowe w badaniach *in vitro* co było opisywane w dostępnej literaturze. Słusznie Autorka podniosła temat dalszych badań nad wykorzystaniem ZPA w terapii nowotworów listwy mleczej u suk, z uwagi na różnorodność guzów oraz ich oporność na dany typ terapii. Istotne jest ustalenie odpowiednich procedur w różnych wariantach terapii z uwagi na czas ekspozycji czy natężenie promieniowania zimnej plazmy atmosferycznej. Niezbędna jest standaryzacja protokołów leczniczych w celu uzyskania odpowiednich i pożądaných efektów terapeutycznych.

**Dyskusja** uzyskanych wyników jest wnikliwa i dowodzi wiedzy Doktorantki. Napisana jest spójnie. Widoczna jest umiejętność samodzielnej oceny danych z piśmiennictwa. Na uwagę zasługuje fakt krytycznego podejścia do otrzymanych wyników przy zastosowaniu



zimnej plazmy atmosferycznej. Autorka słusznie zauważyła, iż pozytywne rezultaty terapii ZPA dotyczyły zmian nowotworowych u myszy, gdzie wielkość zmian u tych zwierząt istotnie różni się od zmian nowotworowych listwy mlecznej u suk, a co za tym idzie długość i sposób naświetlania. Doktorantka podkreśliła znaczenie przeprowadzenia wielokierunkowych analiz, które uwzględnią różne interakcje między zimną plazmą atmosferyczną, a badanymi komórkami.

**Spis piśmiennictwa** zawiera 211 cytowane pozycje przedstawione w sposób ujednolicony. Przywołane prace są odpowiednio wybrane, dawne i aktualne związane z tematem pracy.

Przeredagowania wymaga:

- Autorka używa nazwy „tzw.linia biała” – linia lub kresa biała (*linea alba*) jest określeniem anatomicznym i nie wymaga przedrostka „tzw” (strona 10);

- strona 12 wers 8: zdanie zaczynające się od „Naczynia wewnętrzne ...i zbierają limfę z tkanek łącznotkankowych” – lepiej będzie brzmiało „z tkanek łącznych otaczających gruczoł”;

Strona 13 – dobrze byłoby podać cytowanie po zdaniu „Jeśli zabieg jest przeprowadzany przed pierwszą cieczką ryzyko jest mniejsze niż 0,5%”;

Strona 14 - proszę wymienić, która odmiana cocker spaniela- angielski czy amerykański;

Strona 14 wers 16 - po wyrazie „proliferaacji” nie jest potrzebny zaimek „się”;

Strona 20 – opis obrazu badania elastograficznego – dobrze by było dodać, że kolorystyka jest umowna, jeśli chodzi o obrazowanie sztywności tkanek, ponieważ kolory można ustawiać zamiennie, podobnie jak kolory przepływu krwi w badaniu dopplerowskim;

Strona 44 (Materiały i metody) – oznaczenia biochemiczne: rozszerzyłabym panel badań nerkowych o filtrację nerkową (GFR), a panel wątrobowy o fosfatazę zasadową (ALP) i gamma-glutamylotranspeptydazę (GGTP) ponieważ izolowany wzrost ALP najczęściej wskazuje na choroby kości, natomiast podwyższenie wskaźnika skorelowane ze wzrostem GGTP jest istotne w diagnostyce niedrożności dróg żółciowych, cholestazy wątrobowej spowodowanej kamicą żółciową lub nowotworami (nie tylko w obrębie wątroby);

Strona 47 podrozdział 4.1.2.- proszę uściślić w którym dniu badania wartości badanych parametrów morfologicznych były w normie, a kiedy powyżej;

strona 49 podrozdział 4.1.3.- tu również proszę uściślić w którym dniu badania wartości badanych parametrów biochemicznych były w normie, a kiedy powyżej;

strona 54 podrozdział 4.2.2 oraz strona 57 podrozdział 4.2.3– podobnie jak w grupie I, proszę uściślić w którym dniu badania wartości badanych parametrów morfologicznych i biochemiczne były w normie, a kiedy powyżej zakresów referencyjnych;

Podsumowując, pragnę podkreślić, że uwagi i spostrzeżenia w żaden sposób nie umniejszają wartości merytorycznej pracy. Pracę oceniam pozytywnie. Doktorantka przeprowadziła dobrej jakości badanie naukowe i wykazała dojrzałość w definiowaniu zadań badawczych i doborze materiałów i metod. Autorka wykazała się umiejętnością formułowania logicznych wniosków i korzystania z danych literaturowych. Przedstawione przez lek.wet. Barbarę Granosik badania w istotny sposób przyczynią się do rozwoju wiedzy o gruczole mlekowym u suk i zmian w nim występujących. Wyrażam nadzieję, że badania Doktorantki w tym zakresie będą nadal przez Nią kontynuowane.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska wnosi istotne elementy do nauki, spełniając wszystkie warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytułach naukowych oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65 poz. 595 z późn. zm.) w zw. z art. 179 ust.3 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. z późn. zm. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z dn. 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.). Ze względu na trudność terapii i innowacyjność badań przy zastosowaniu ZPA nad procesami nowotworowymi gruczołu mlekowego u suk wnioskuję o wyróżnienie pracy lek.wet. Barbary Granosik stosowną nagrodą.

W związku z powyższym przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Panią lek. wet. Barbarę Granosik do dalszych etapów postępowania mającego na celu nadanie stopnia naukowego doktora.

*Janusz Wójcik*  
Puc