

dr hab. n. med. i n. o zdr. Dominika Stygar  
Katedra i Zakład Fizjologii  
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego

Zabrze, 12 czerwca 2023 roku

## RECENZJA

**Rozprawy na stopień doktora nauk weterynaryjnych  
pani mgr inż. Ewy Kumiegi  
pt.: *Ocena parametrów czerwonych krwinek oraz gospodarki żelazowej  
u psów z niewydolnością serca***

wykonanej pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Agnieszki Noszczyk-Nowak  
w Zakładzie Medycyny Translacyjnej  
Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów  
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej  
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Ewy Kumiegi liczy 85 stron, zawiera 10 rycin, 4 schematy, 8 tabel oraz 119 pozycji piśmiennictwa, ma przy tym klasyczny układ dysertacji – składa się z następujących rozdziałów: Autoreferat, Wykaz stosowanych skrótów, Streszczenie, Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Bibliografia, Spis tabel, Spis rycin.

W zwięzłym *Wstępie* (str. 13-25) Autorka powołując się na aktualne piśmiennictwo przedstawia złożone zagadnienie zależności pomiędzy chorobą zwyrodnieniową zastawki mitralnej serca (DMVD, ang. *degenerative mitral valve disease*), należącej do najczęstszych schorzeń układu krążenia prowadzących do niewydolności serca (NS, HF, ang. *heart failure*), u psów a gospodarką żelaza i wybranymi parametrami gospodarki żelaza.

Doktorantka charakteryzuje chorobę zwyrodnieniową zastawki mitralnej u psów, która należy do najczęściej rozpoznawanych chorób układu krążenia u tego gatunku i związana jest z około 75% przypadków przewlekłej niewydolności serca. Autorka wskazuje także rasy psów szczególnie predysponowane do rozwoju choroby, jak np. Cavalier King Charles Spaniel

(CKCS), jamniki, pudle miniaturowe, maltańczyki, Chihuahua, pomeraniany, Yorkshire terriery.

Niedobór żelaza jest częstym zaburzeniem współistniejącym z niewydolnością serca u ludzi, związanym z gorszym rokowaniem. Zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego z 2021 roku dotyczącymi przewlekłej i ostrej niewydolności serca u ludzi, należy aktywnie poszukiwać symptomów niedoboru żelaza u pacjentów z niewydolnością serca. Wiadomo, że dożylna suplementacja żelaza zmniejsza ryzyko hospitalizacji u pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową. W ocenie skuteczności leczenia niewydolności serca spowodowanej chorobą zwyrodnieniową zastawki mitralnej serca u ludzi stosowane są parametry kliniczne (np. duszność, obrzęki, zmiana masy ciała) oraz laboratoryjne (np. peptydy natriuretyczne), wśród których coraz więcej uwagi poświęca się parametrom czerwonych krwinek. W przedłożonej rozprawie Autorka dogłębnie przybliżyła metody analizy oraz techniki barwienia rozmazu ręcznego krwi psiej a także analizy parametrów hematologicznych metodą automatyczną. Ponadto Autorka prezentuje wybrane parametry hematologiczne w kontekście niedokrwistości.

*Cele pracy* umieszczone na stronie 28 są jasno określone i uzasadniają potrzebę przeprowadzenia badań, do których Doktorantka zastosowała bardzo udany model zwierzęcy badań, obejmujący 68 psów małych ras, będących pacjentami Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni Psów i Kotów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (43 samców, 25 samic) gdzie średni wiek psów wynosił  $10,8 \pm 2,5$  lat. Przydatność zastosowanego modelu została przedstawiona w publikacji Kumiega E, Michałek M, Kasztura M, Noszczyk-Nowak A. Analysis of Red Blood Cell Parameters in Dogs with Various Stages of Degenerative Mitral Valve Disease. J Vet Res. 2020 Jun 16;64(2):325-332. doi: 10.2478/jvetres-2020-0043. PMID: 32587922; PMCID: PMC7305654. Autorka rozprawy dokonała oceny związku niewydolności serca w przebiegu choroby zwyrodnieniowej zastawki mitralnej z parametrami morfologii krwi obwodowej. Szczegółowej analizie poddała gospodarkę żelaza psów z DMVD, wykorzystując różne techniki badań laboratoryjnych, zakładając, że wykonana wieloparametrowa analiza wyników krwi pełnej oraz surowicy może przyczynić się do lepszego zrozumienia przebiegu choroby DMVD u psów oraz przydatności poszczególnych metod laboratoryjnych u tej grupy pacjentów.

Rozdział *Materiały i Metody* przedstawiony jest jasno i klarownie. Opis grup, zastosowanych technik i materiałów jest czytelny. Na podkreślenie zasługuje fakt określenia przez Autorkę rozprawy kryteriów włączenia i wyłączenia do badania pacjentów z poszczególnych grup.

W opisie analizy statystycznej pojawiły się nieznaczne nieścisłości, które mogą się zdarzyć w tak obszernej pracy. W języku polskim w zapisie cyfr powinny być zastosowane przecinki a nie kropki. W zapisie wieku pacjentów nie podano jednostki. Dla jasności analizy wskazane byłoby podanie informacji jakie testy statystyczne były stosowane: jednostronne czy dwustronne. W przypadku zapisu istotności statystycznej wyniku testu powinien pojawić się zapis mniejsze bez równe. W podrozdziale 3.5.2 większość zmiennych ciągłych miała rozkład normalny i została wyrażona jako średnia  $\pm$  odchylenie standardowe, ale w zapisie widnieje mediana ( $Me \pm SD$ ). W tekście pojawia się kilka nieścisłości nomenklatury statystycznej na przykład zapis „niesparowany test t-Studenta”, zapis kwartyli bez indeksu dolnego, „jednokierunkowy zwykły testu ANOVA”, „niesparowany test t-Studenta”.

Z pozycji recenzenta proszę o odpowiedź na pytanie:

1. W jaki sposób zbadano homogeniczność wariancji?

W dysertacji pojawiają się nieścisłości typograficzne, mikrotypograficzne (takie jak brak spacji wokół znaków matematycznych, brak kropki po skrócie ang., znak minus zamiast półpauzy, kropka jako separator miejsc dziesiętnych zamiast przecinka), a także niekonsekwencja w formatowaniu danych bibliograficznych prac z listy JCR.

Chcę przy tym podkreślić, że wymienione w recenzji zastrzeżenia nie umniejszają wartości pracy Doktorantki, którą oceniam wysoko.

Autorka rozprawy w oparciu o zgromadzone dane wykazała brak istotnie statystycznych różnic w parametrach morfologii krwi obwodowej pomiędzy grupą kontrolną a zwierzętami chorymi przyporządkowanymi do wszystkich grup DMVD. Nie stwierdziła także różnic istotnych statystycznie pomiędzy parametrami morfologicznymi mierzonymi na analizatorze LaserCyte IDEXX a scil Vet ABC Animal Blood Counter. Autorka na podstawie analizy rozmazu ręcznego stwierdziła istotnie większe nasilenie anizocytozy erytrocytów u psów z grupy objawowej DMVD (grupy C i D) w porównaniu do wyników pacjentów z grupy kontrolnej, wykazała także różnice w morfologii krwi w poszczególnych grupach badanych. Doktorantka

wykazała znaczący wzrost odsetka retikulocytów obliczonych metodą manualną u psów zakwalifikowanych jako grupa objawowa (grupa C i D) w porównaniu do grupy kontrolnej. Autorka zaobserwowała pozytywną korelację pomiędzy wielkością lewego przedsionka serca wyrażoną jako stosunek LA/Ao, a bezwzględną liczbą retikulocytów oraz ich odsetkiem liczoną manualnie. Wzrost wartości LVIDdN korelował z bezwzględną liczbą retikulocytów mierzoną automatycznie oraz odsetkiem retikulocytów policzonym manualnie.

Doktorantka opisała istotne statystycznie różnice w parametrach echokardiograficznych, takich jak LA/Lo, LVIDdN i częstość akcji serca (HR) analizowane i porównywane między grupą pacjentów zdrowych a pacjentami z poszczególnych grup badanych.

Przedstawione wyniki jasno wskazują na transferynę jako potencjalny i ciekawy marker zmian w gospodarce żelaza psów z chorobą zwyrodnieniową zastawki mitralnej serca. U 12,5% badanych pacjentów tj. chorych psów z zaawansowaną chorobą stwierdzono niedobór żelaza zarówno u pacjentów objawowych jak i bezobjawowych. Autorka wykazała zależność pomiędzy parametrami badania echokardiograficznego (LA/Ao i LVIDdN) a parametrami gospodarki żelaza, gdzie zwiększenie wielkości lewego przedsionka (zwiększenie stosunku LA/Ao) było związane ze spadkiem stężenia żelaza w surowicy psów. Ponadto, wzrost wartości LVIDdN odpowiadał obniżeniu stężenia żelaza i obniżeniu saturacji.

Doktorantka przeprowadziła i przedstawiła nowatorskie, szczegółowe badania nad zjawiskiem poikilocytozy u psów w różnych stadiach DMVD. Na uwagę zasługuje fakt, że występowanie kodocytów i dakriocytów we krwi nie zostało wcześniej wiązane z niewydolnością serca u psów. W przeprowadzonych badaniach Autorka rozprawy zaznaczyła wzrost liczny kodocytów i dakriocytów u psów z niewydolnością serca w porównaniu do grupy kontrolnej, stawiając jednocześnie hipotezę, związku między zmianą w morfologii krwinek czerwonych a rozwijającym się niedoborem żelaza, obserwowanych w stanach niewydolności serca. Autorka wskazuje także uwagę na potencjalną zależność między stężeniem ferrytyny a rozwojem niewydolności serca u pacjentów z DMVD. W przedstawionych wnioskach Doktorantka w pełni odpowiedziała na postawione cele pracy.

Zaprezentowana dysertacja wypełnia lukę w badaniach nad związkiem między niedoborem żelaza a niewydolnością serca u psów, przedstawia jednocześnie pionierskie założenia i analizy markerów gospodarki żelaza a chorobą zwyrodnieniową zastawki mitralnej serca.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny **rozprawa doktorska p. mgr inż. Ewy Kumiegi** pt. *Ocena parametrów czerwonych krwinek oraz gospodarki żelazowej u psów z niewydolnością serca* wykonana w Zakładzie Medycyny Translacyjnej Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, pod opieką Pani prof. dr hab. Agnieszki Noszczyk-Nowak **spełnia kryteria stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora**, zdefiniowane art.13 ust.1 ustawy z 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (j.t. Dz.U. z 2017r. poz.1789 z późn. zm.). **Dysertacja pani mgr inż. Ewy Kumiegi prezentuje adekwatną wiedzę teoretyczną Doktorantki w wybranej przez nią dyscyplinie oraz jej umiejętności prowadzenia pracy naukowej – recenzja jest zatem pozytywna.**

W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Dyscypliny Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie p. mgr inż. Ewy Kumiegi do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę 1) duże znaczenie praktyczne podjętych badań, 2) bardzo obszerny zakres przeprowadzonych badań oraz 3) istotność i jakość uzyskanych wyników, zwracam się do Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pani mgr inż. Ewy Kumiegi.

