

Dr hab. n. med. Katarzyna Hojan
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Wielkopolskie Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Poznaniu

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anety Łomnickiej

pt. "Wpływ wysiłku fizycznego na układ immunologiczny podczas karcinogenezy wywołanej N-metylo-N-nitrozomocznikiem u szczurów" w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o kulturze fizycznej z Akademii Wychowania Fizycznego w Poznaniu

Promotor dr hab. Iwona Malicka prof. AWF

Podstawę opracowania recenzji przeze mnie stanowi otrzymane pismo od Przewodniczącego Rady Kolegium Naukowego AWF we Wrocławiu Prof. dr hab. Marka Woźniewskiego z dnia 20 września 2021 roku oraz przekazana rozprawa doktorska.

I. Ocena merytoryczna

Na podstawie art.187.1 ust. 3 ustawy z dnia 20.07.2018r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 poz.85 z późn.zm) rozprawa doktorska Anety Łomnickiej pt. *"Wpływ wysiłku fizycznego na układ immunologiczny podczas karcinogenezy wywołanej N-metylo-N-nitrozomocznikiem u szczurów"* ma formę monografii naukowej i obejmuje 124 strony.

Układ rozdziałów jest typowy dla prac o charakterze empirycznym. Rozprawa doktorska składa się ze spisu treści, wstępu, celu prowadzonego badania, wykorzystanego materiału i metod, prezentacji uzyskanych wyników, dyskusji, wniosków, piśmiennictwa, streszczenia w języku polskim i angielskim, spisu rycin i tabel oraz zgody komisji bioetycznej. Całość pracy napisana jest w sposób przejrzysty i zrozumiały w sposób właściwy zagadnienia związane z tematyką pracy.

II. Oryginalność i trafność podjętej tematyki pracy

Rak piersi jest najczęściej występującym nowotworem u kobiet w Polsce i na świecie. Pomimo wprowadzania wielu programów w zakresie profilaktyki pierwotnej i wtórnej nadal poszukiwane są metody mogące wpłynąć na modulacje procesu karcynogenezy.

Aktywność fizyczna należy do głównych elementów zdrowego stylu życia i odgrywa istotną rolę w promocji zdrowia. a utrzymana na odpowiednim poziomie działa prewencyjnie, zmniejszając ryzyko m.in. rozwoju nowotworów złośliwych. Korzyści płynące z podejmowania aktywności fizycznej w aspekcie profilaktyki wtórnej obserwuje się od wielu lat w literaturze naukowej, zarówno u kobiet będących w trakcie leczenia nowotworu piersi, jak i po jego zakończeniu.

Przedstawiona mi do recenzji dysertacja stanowi oryginalną oraz obiektywnie oceniającą pracę badawczą dotyczącą analizy wpływu wysiłku fizycznego na układ immunologiczny podczas wywołanej karcinogenezy u szczurów.

Szeroko opisana przez Doktorantkę we wstępie problematyka profilaktyki pierwotnej i wtórnej raka piersi wskazuje na konieczność dalszego prowadzenia badań naukowych dotyczących aspektu aktywności fizycznej u chorych na nowotwory. Dotychczasowe badania potwierdziły, że aktywność fizyczna wraz z dietą śródziemnomorską przyczynia się do obniżenia procesu zapalnego w organizmie poprzez obniżenie markera zapalnego (CRP). Obecność czynników zapalnych w mikrośrodowisku guza ułatwia proliferację i migrację komórek nowotworowych oraz angiogenezę. Dowiedziono, że stężenie cytokin prozapalnych: CRP, TNF- α , IL-6 zmniejszają się w organizmie pod wpływem umiarkowanej aktywności fizycznej. Dodatkowo korzystnym skutkiem aktywności fizycznej prowadzącym do obniżenia ryzyka zachorowania na raka piersi jest zmniejszenie stężenia hormonów płciowych oraz modulacja układu odpornościowego. Wpływ wysiłku fizycznego na mechanizmy odpowiedzi nieswoistej jest jednak różny w zależności od tego, czy jest to wysiłek intensywny i krótkotrwały, czy przewlekły i regularny.

Dlatego w pracy Doktorantka podjęła się badania w którym celem była ocena wpływu wysiłku fizycznego na układ immunologiczny oraz powstanie i rozwój raka listwy mleczej wywołanego N-metylo-N-nitrozomocznikiem u szczurów rasy Sprague–Dawley. Podjęcie badań na wybranym modelu zwierzęcym Doktorantka argumentuje ograniczonymi możliwościami prowadzenia badań na populacji ludzkiej, a szczury szczepu Sprague-Dawley posiadają najbardziej zbliżoną do gruczołów ludzkich strukturę i funkcję, a także podobieństwo na poziomie 58% między białkiem BRCA1 szczura a człowieka. U tego rodzaju gryzoni, strukturą wykazującą podobieństwo są zarówno we wzroście, rozwoju i patologii jest tzw. TEBs (terminal end buds) bardzo podatne na działanie rakotwórczych czynników, co pozwala na przeprowadzanie badań porównujących proces karcinogenezy i rozwoju nowotworu u ludzi i tych gryzoni.

Wszystkie procedury związane z przeprowadzeniem eksperymentu zostały przeprowadzone zgodnie ze standardami Unii Europejskiej. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę od I Lokalnej Komisji Etycznej Ludwika Hirszfelda ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu co autorka potwierdza na końcu pracy kopią.

Doktorantka przystępując do badań przedstawiła pytania badawcze:

1. Czy trening fizyczny wpływa na ryzyko zachorowania i przebieg raka listwy mleczej u szczurów, oceniane poprzez liczbę i objętość wyindukowanych guzów oraz jego proliferację i apoptozę?
2. Czy czas indukcji guza jest uzależniony od podejmowania treningu fizycznego i jego intensywności?

3. Czy trening fizyczny oraz poziom jego intensywności wpływa na układ immunologiczny badanych szczurów?
4. Czy występują zależności pomiędzy indukcją guza, jego objętością, proliferacją i aktywnością apoptotyczną komórek nowotworowych a poziomem subpopulacji limfocytów?
5. Czy występują różnice pomiędzy modelami (prewencja pierwotna vs prewencja wtórna) w zakresie liczby wyindukowanych guzów, ich objętością, proliferacją, aktywnością apoptotyczną komórek nowotworowych i poziomem subpopulacji limfocytów w odniesieniu do poziomu treningu fizycznego?

Mgr Aneta Łomnicka postawiła również dwie hipotezy badawcze:

1. Trening fizyczny działa protekcyjnie zarówno na rozwój, jak i przebieg raka listwy mleczej.
2. Mechanizmem wpływającym na rozwój i przebieg raka listwy mleczej jest poziom proliferacji, aktywność apoptotyczna komórek nowotworowych i poziom subpopulacji limfocytów zmieniające się pod wpływem treningu fizycznego.

W pracy doktorskiej rozpoczęto badania na grupie 105 samic szczurów rasy Sprague–Dawley, które to przeprowadzono w ośrodku badawczym dla zwierząt (Zakład Patomorfologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu).

Doktorantka nie opisała kryteriów włączenia i wyłączenia z badania co cennie uzupełniłoby metodykę doboru badanych szczurów do analizy grupy. Nie zamieszczono w pracy schematu badania który pomógłby w obserwacji przebiegu tego eksperymentu badawczego.

W mojej opinii Doktorantka w sposób zbyt skrótowo opisała materiał badawczy stwierdzając ostateczną liczbę szczurów poddanych analizie statystycznej.

Ponieważ wyniki pracy mogą mieć zastosowanie w dalszych badaniach klinicznych, proszę Doktorantkę o ustosunkowanie się do następujących kwestii:

1. Dlaczego liczba badanych szczurów różni się istotnie od zakładanej liczebności wyjściowej?
2. W jakim czasie prowadzonego badania obserwowano śmiertelność badanych szczurów, a szczury obserwowane w modelu 2 w istotnie większej liczbie osobników nie zakończyły badania i ich dane nie zostały włączone do analizy?
3. Uwagę zwracają dane tabeli 1 prezentujące zestawienie liczb poddanych analizie szczurów, szczególnie te w grupach z wysokim poziomem intensywności treningu w których znacząco mniejsza liczba osobników nie zakończyła badania (w obu modelach obserwacji) - proszę o komentarz Doktorantki.

Pozostałe wyniki badania odzwierciedlają bardzo szeroki zakres analizowanych parametrów i zostały są przedstawione na 24 tabelach i 14 rycinach.

Dyskusja poprowadzona została na czternastu stronach. Doktorantka prawidłowo odniosła swoje wyniki do innych autorów prac naukowych oraz podjęła próbę interpretacji, często o teoretycznym charakterze, jak wyniki Jej pracy badawczej prezentują się na tle aktualnego stanu wiedzy. Mgr Aneta Łomnicka cytuje pozycje z literatury naukowej stosownie do potrzeb niniejszej dysertacji. Ostatecznie udowadnia pozytywne działanie aktywności fizycznej na rozwój i przebieg raka piersi, zmniejszenie częstotliwości występowania nowotworu i jego przerzutów. Z drugiej strony doniesienia odnoszące się do potencjalnych mechanizmów immunologicznych stanowiące fundamenty pozytywnego efektu aktywności fizycznej są w dalszym ciągu na wczesnym stadium badań i potrzebne jest dogłębniejsze przeprowadzenie analiz, aby zrozumieć ten mechanizm.

Dyskusja nie budzi zastrzeżeń, jest czytelna, skrupulatnie i systematycznie omawia uzyskane wyniki, co pozwala autorowi na wyciągnięcie końcowych wniosków.

Wnioski, które podsumowują najważniejsze wyniki pracy i są odpowiedzią na stawiane pytania i hipotezy badawcze.

B. Ocena uzyskanych rezultatów i ich znaczenie dla nauki i praktyki

Rozprawa doktorska mgr Anety Łomnickiej posiada nowatorski charakter, prezentuje ciekawe wyniki na temat zastosowania aktywności fizycznej na modulowanie karcinogenezy wywołanej u szczurów, co w przyszłości może zostać wykorzystane do dalszych badań klinicznych u pacjentów z rakiem piersi lub innymi nowotworami.

Doktorantka w badaniu wykazała, iż regularnie podejmowany trening fizyczny wpływa protekcyjnie na ryzyko zachorowania i przebieg raka listwy mlecznej u szczurów. Zaobserwowała istotny wpływ treningu fizycznego na redukcję rozwoju nowotworu dzięki apoptozie komórek nowotworowych. W prewencji pierwotnej autorka pracy nie stwierdziła związku pomiędzy czasem indukcji guza od podejmowania treningu fizycznego i jego intensywności. W prewencji wtórnej czas indukcji guza był jednak uzależniony od podejmowania treningu fizycznego. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania sugerują mobilizację układu immunologicznego do walki z rakiem listwy mlecznej u szczurów poprzez wzrost liczebności poszczególnych frakcji limfocytów. W badaniach pomiędzy indukcją guza, jego wielkością, proliferacją i aktywnością apoptotyczną komórek nowotworowych, a poziomem subpopulacji limfocytów nie wykazano wspólnych zależności. Między modelem prewencji pierwotnej, a modelem prewencji wtórnej występuje różnica w zakresie liczby wyindukowanych guzów nowotworowych w zależności od poziomu intensywności treningu fizycznego. Zaobserwowano także różnice między liczbą komórek apoptotycznych w zależności od poziomu intensywności treningu. Doktorantka stwierdza, iż do zwiększenia apoptozy komórek nowotworowych w modelu prewencji pierwotnej dochodzi podczas ćwiczeń fizycznych o umiarkowanej intensywności, a w modelu prewencji wtórnej podczas ćwiczeń o wysokiej intensywności. Poziom subpopulacji limfocytów w odniesieniu do poziomu treningu fizycznego wykazuje w modelu prewencji pierwotnej istotne różnice, a w modelu prewencji wtórnej występuje brak różnic. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania dowodzą, że trening fizyczny o umiarkowanej intensywności wpływa stymulująco na

antynowotworową odpowiedź organizmu poprzez mobilizację układu immunologicznego do walki z komórkami nowotworowymi dzięki zwiększeniu liczby limfocytów.

III. Ocena metodologiczna

Dobór literatury, umiejętności, wykorzystanie źródeł

Piśmiennictwo jest aktualne, adekwatne do tematu pracy doktorskiej oraz prawidłowo zacytowane.

Poprawność formułowania problemów i hipotez (założenia badawcze)

Cele i hipotezy badawcze zostały sformułowane prawidłowo, a wnioski odpowiadają ściśle postawionym celom pracy i znajdują podparcie w przedstawionych wynikach.

Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętności ich zastosowania

Opis metodyki prac zawiera informacje niezbędne dla zorientowania się w sposobie przeprowadzania badania. Należy podkreślić, iż Doktorantka wykorzystwała nowoczesne metody diagnostyczne dające możliwość obiektywnej obecny badanych parametrów. Ponadto, użyła odpowiednich metod statystycznych.

Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna

Doktorantka posługuje się poprawnym słownictwem charakterystycznym dla prac naukowych, medyczny język angielski i polski jest prawidłowy. Praca doktorska napisana jest poprawnie pod względem formalno - językowym, stylistycznym.

IV. Wniosek końcowy

Przystępując do oceny całości stwierdzam, że praca doktorska mgr Anety Łomnickiej stanowi bardzo wartościowy i nowatorski dorobek naukowy. Autorka wykazała się znajomością piśmiennictwa z zakresu prowadzonej pracy, w sposób umiętny przeprowadziła badania doświadczalne. Na szczególne uznanie zasługuje szeroka analiza uzyskanych wyników z przeprowadzonych badań. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Anety Łomnickiej spełnia warunki kryteriów wyznaczonych przez aktualnie obowiązujące przepisy określone art.187 ustawy z dnia 20.07.2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 poz.85 z późn.zm) w związku z czym zwracam się do Rady Kolegium Naukowego Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu o przyjęcie dysertacji pt. „*Wpływ wysiłku fizycznego na układ immunologiczny podczas karcinogenezy wywołanej N-metylo-N-nitrozomocznikiem u szczurów*” jako rozprawy doktorskiej, dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk o kulturze fizycznej.

Poznań, 20 listopada 2021 roku


dr hab. n. med. Katarzyna Hojan
specjalista rehabilitacji medycznej
tel. 601 509 967