



Prof. dr hab. Marcin Nowak

Wrocław, 09-02-2026

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Anny Roszkowskiej pt.:
„Mutacje genu TP53 w nowotworach gruczołu mlekowego u suk”
wykonanej w Katedrze Nauk Przedklinicznych, Instytutu Medycyny
Weterynaryjnej, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
pod kierunkiem dr hab. Sylwii Flis, prof. SGGW

Nowotwory piersi u kobiet oraz nowotwory gruczołu mlekowego u psów należą do najczęściej występujących zmian onkologicznych u tych gatunków, a notowany trend wzrostowy w ilości zachorowań wzmaga konieczność poszukiwania nowych metod i strategii zarówno w diagnostyce jak i terapii tych schorzeń. Proces ten nie jest możliwy bez wykorzystania odpowiednio dobranych i sprawdzonych modeli zwierzęcych. Powszechnie wykorzystywane w badaniach *in vivo* gryzonie nie są idealnym modelem z racji na duże różnice zarówno w etiologii, behawiorze jak i przebiegu procesu kancerogenezy. W tej sytuacji coraz częściej rozważa się psa jako model badawczy z racji na wspólne z człowiekiem środowisko życia i narażenie na podobne kancerogeny.

Liczne badania wskazują, że dużą rolę w procesach nowotworzenia odgrywa białko p53 określane mianem „strażnika genomu”, które chroni komórki przed

ZAKŁAD PATOMORFOLOGII I WETERYNARII SĄDOWEJ
KATEDRA PATOLOGII
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

transformacją nowotworową poprzez m.in. aktywację szlaków naprawy DNA a także inicjację apoptozy. Mutacje w genie TP53 są obecne w wielu guzach nowotworowych w tym także w raku piersi gdzie ich obecność koreluje z gorszym rokowaniem, większą chemioopornością, czy zdolność do metastazy. Autorka podaje, że dotychczas nie przeprowadzono badań oceniających, w jakim stopniu model nowotworu gruczołu mlekowego u suk odzwierciedla raka piersi u kobiet pod względem obecności mutacji w genie TP53 oraz czy ich obecność koreluje z występowaniem objawów klinicznych.

W tym świetle badania przeprowadzone przez mgr inż. Katarzynę Roszkowską są bardzo cenne i wierzę, że oprócz walorów poznawczych będą miały również duże znaczenie aplikacyjne.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska jest typowym opracowaniem monograficznym, zawierającym wszystkie niezbędne elementy związane z prawidłowo zrealizowanym etapem edytorsko-redakcyjnym. Składa się z 13-ciu rozdziałów obejmujących 137 stron, w tym: *Streszczenie* (w języku polskim i angielskim), *Informacja o finansowaniu badań*, *Wykaz skrótów*, *Wstęp i przegląd literatury*, *Hipoteza badawcza*, *Cel Pracy*, *Materiał i Metody*, *Wyniki i analiza statystyczna*, *Omówienie wyników i dyskusja*, *Wnioski końcowe*, *Bibliografia* obejmująca 181 pozycji oraz *Załączniki*.

Pierwszym rozdziałem recenzowanej pracy doktorskiej jest „*Streszczenie*” które w języku polskim i angielskim w bardzo czytelny i siłą rzeczy skrótowy sposób przedstawia osiągnięcia Doktorantki zawarte w dysertacji z rzeczowym podsumowaniem.

Następne dwa rozdziały informują w prawidłowy i czytelny sposób o źródłach finansowania badań i użytych w pracy skrótach.

Kolejnym rozdziałem ocenianej pracy doktorskiej jest „*Wstęp i przegląd literatury*”, który jest wyczerpujący, zawiera wszystkie niezbędne informacje, które w umiejętny sposób wprowadzają czytelnika w meritum tematu rozprawy

ZAKŁAD PATOMORFOLOGII I WETERYNARII SĄDOWEJ
KATEDRA PATOLOGII
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

doktorskiej. W tym dziale mgr inż. Katarzyna Roszkowska z dużą precyzją a jednocześnie swobodą przedstawia najnowszy stan wiedzy na temat prevalencji raka piersi w Polsce i na świecie, opisuje funkcje i rolę białka p53 oraz mutacje w genie *TP53*, opisuje klasyfikację raków piersi, przedstawia informacje dotyczące biologicznych podstaw wykorzystania psa jako modelu w badaniach nad nowotworami człowieka w tym porównuje biologię nowotworów gruczołu mlekowego z akcentem na funkcje genu *TP53* i białka p53 w analizowanych nowotworach u tych gatunków. Na koniec tego rozdziału Autorka opisuje metody diagnostyczne i możliwości terapeutyczne w leczeniu nowotworów gruczołu mlekowego u suk oraz przedstawia wiedzę z zakresu użycia modeli komórkowych jako narzędzia w badaniach nad nowotworami gruczołu mlekowego.

Na podkreślenie zasługuje bardzo dobre wykorzystanie przez doktorantkę w tej części rozprawy doktorskiej bogatej, aktualnej literatury co w rzetelny sposób oddaje stan wiedzy z zakresu omawianego tematu.

Kolejną częścią recenzowanej dysertacji jest rozdział: „*Hipoteza badawcza*” gdzie Autorka stawia hipotezę, że „mutacje w genie *TP53* występujące w nowotworach gruczołu mlekowego suk wpływają zarówno na właściwości biologiczne komórek nowotworowych *in vitro*, jak i na wybrane parametry kliniczne obserwowane u badanych zwierząt”.

Kolejną częścią recenzowanej dysertacji jest rozdział: „*Cel pracy*”. Jest on krótkim, zwięzłym oraz komunikatywnym określeniem stwierdzającym jakie zadania Doktorantka sobie postawiła w ramach zaplanowanych badań, tak aby spełnić główny cel i założenia rozprawy doktorskiej tj.: ocena, czy spektrum mutacji w genie *TP53* w nowotworach gruczołu mlekowego u suk wykazuje podobieństwo do tego obserwowanego w raku piersi u kobiet, a także czy obecność tych mutacji koreluje z parametrami klinicznymi i molekularnymi, takimi jak typ histologiczny nowotworu, stopień złośliwości,

ZAKŁAD PATOMORFOLOGII I WETERYNARII SĄDOWEJ
KATEDRA PATOLOGII
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

inwazyjność, zdolność migracji komórek, chemiooporność (oceniane w modelu *in vitro*), oraz z poziomem ekspresji wybranych genów z panelu PAM50: MYBL2, CCNE1, PHGDH, CDC20, CDH3, ESR1, MAPT, FOXA1, MLPH, SLC39A6, a dodatkowo także *TP53* oraz jego negatywnego regulatora MDM2.

Jako cele szczegółowe Autorka wyodrębniła 5 zadań:

- opracowanie kryteriów kwalifikacji pacjentek oraz pobieranych guzów do badań;
- identyfikację i charakterystykę mutacji genu *TP53* w uzyskanych próbkach nowotworowych;
- opracowanie procedur izolacji i hodowli komórek przy zachowaniu możliwie najwyższej zgodności z cechami guza pierwotnego;
- opracowanie i standaryzację protokołów *in vitro* umożliwiających ocenę parametrów biologicznych związanych ze złośliwością nowotworu oraz ich korelację z danymi klinicznymi i molekularnymi;
- określenie profilu ekspresji wybranych genów i jego zestawienie z pozostałymi wynikami badań w celu identyfikacji potencjalnych markerów prognostycznych i predykcyjnych.

Rozdział ten jest prawidłowo sformułowany i poza drobnymi literówkami nie mam do tej części pracy doktorskiej zastrzeżeń.

Również bardzo rozbudowany i szeroki dział „*Materiały i metody*” nie budzi specjalnych wątpliwości, a rzetelnie przedstawione informacje dotyczące zarówno aspektu pozyskiwania materiału biologicznego czyli w tym przypadku guzów nowotworowych, przez ich ocenę histopatologiczną, izolację komórek nowotworowych i ich hodowlę, formowanie sferoidów, analizy migracji komórek, analizy ich chemiooporności i inwazyjności oraz badania z zakresu biologii molekularnej świadczą o dużej samodzielności naukowo-badawczej Autorki doktoratu.

ZAKŁAD PATOMORFOLOGII I WETERYNARII SĄDOWEJ
KATEDRA PATOLOGII
WYDZIAŁ MEDYCyny WETERYNARYJNEJ

Jak w każdej, prawidłowo zaplanowanej i wykonanej pracy badawczej wyniki zostały poddane rzetelnej i dokładnej analizie statystycznej z wykorzystaniem programu GraphPad Prism.

Kolejny rozdział to *"Wyniki i analiza statystyczna"*, w którym Doktorantka dokładnie opisuje rezultaty przeprowadzonych badań. Uzyskane wyniki Autorka prezentuje w prawidłowy, czytelny i właściwy sposób. W poszczególnych podrozdziałach tej części dysertacji mgr inż. Katarzyna Roszkowska opisuje:

1. Materiał pozyskany do badań.
2. Linie komórkowe wyprowadzone z pozyskanych w ramach pracy guzów nowotworowych gruczołu mlekowego u suk.
3. Analizę ekspresji genów z panelu PAM50 w guzach nowotworowych gruczołu mlekowego suk.

Moje drobne uwagi to str. 69 zdanie *"...nowotwory niewywodzące się z gruczołu mlekowego..."* powinno raczej brzmieć *"...nowotwory niewywodzące się z tkanki gruczołowej..."*

Również w tym miejscu chciałbym uwypuklić problem słusznie zauważony przez Autorkę, a mianowicie trudność z pobraniem reprezentatywnego wycinka do badań w przypadku guzów dużych, które zazwyczaj mają bardzo złożoną i heterogenną budowę, jak również zmiennie obfite obszary martwicze czy też objęte procesem zapalnym. Jak również pozostaje otwarty problem różnych podtypów histologicznych nowotworu u tego samego osobnika w obrębie jednej listwy mleczej.

Należy uwypuklić fakt, że Autorce udało się ustalić pewne dane kliniczne od 27 pacjentek dotyczące m.in. czasu przeżycia bez wznowy co niestety jest dosyć rzadkie w badaniach weterynaryjnych.

Całość, dokumentująca osiągnięte rezultaty jest zaprezentowana przez mgr inż. Katarzynę Roszkowską w sposób bardzo czytelny z wykorzystaniem

ZAKŁAD PATOMORFOLOGII I WETERYNARII SĄDOWEJ
KATEDRA PATOLOGII
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

licznych, bardzo dobrej jakości, kolorowych zdjęć, rycin, tabel i wykresów, co sprawia, że nie nastęcza odbiorcy większych kłopotów z przyswojeniem i analizą otrzymanych przez Doktorantkę bardzo licznych wyników oraz potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Należy zdecydowanie i kolejny raz podkreślić, że Doktorantka uzyskane wyniki poddała właściwie dobranej i rzetelnej analizie statystycznej.

Mgr inż. Katarzyna Roszkowska w rozdziale pt.: „Omówienie wyników i dyskusja” w oparciu o udokumentowane wyniki przeprowadzonych badań własnych prowadzi rzeczową i mądrą polemikę z innymi Autorami zajmującymi się podobnym tematem zarówno w aspekcie weterynaryjnym jak i medycyny człowieka. Należy przyznać, że ten fragment pracy potwierdza bardzo dobre rozeznanie mgr inż. Katarzyny Roszkowskiej w temacie prowadzonych badań oraz potwierdza dużą wiedzę Autorki w zakresie omawianej tematyki. Dodatkowo należy podkreślić swobodne poruszanie się Doktorantki w zakresie aktualnego piśmiennictwa w tym głównie anglojęzycznego dotyczącego zagadnień pracy doktorskiej.

Drobne uwagi to str. 96 zdanie *"Istotnym spostrzeżeniem jest fakt, że nie każda zmiana zlokalizowana w obrębie listwy mlekowej wywodzi się z gruczolu mlekowego"....* raczej jest to fakt znany od dawien dawna, a nie "istotne spostrzeżenie".

W każdej pracy doktorskiej podsumowanie stanowią wnioski, wysunięte na podstawie przeprowadzonych badań oraz uzyskanych i przedyskutowanych wyników. W rozdziale *"Wnioski końcowe"* Doktorantka sformułowała 7 wniosków, które dowodzą, że założenia pracy zostały zgodnie z planem zrealizowane tj.:

1. Mutacje w genie TP53 w nowotworach gruczolu mlekowego u suk (w badanej kohorcie) występują z częstością około 15%, a więc rzadziej niż w ludzkim raku piersi (ok. 30%), jednak ich obecność wiąże się z

ZAKŁAD PATOMORFOLOGII I WETERYNARII SĄDOWEJ
KATEDRA PATOLOGII
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

podobnymi zmianami w dynamice wzrostu i fenotypie komórek nowotworowych (np. proliferacja, inwazyjność). Stwierdzono istotną korelację pomiędzy obecnością mutacji w genie TP53 a typem histopatologicznym guza ($p = 0,0121$) oraz stopniem złośliwości ($p=0,0015$).

2. Profil ekspresji wybranych genów z panelu opartego na PAM 50 (MYBL2, CCNE1, PHGDH, CDC20, CDH3, ESR1, MAPT, FOXA1, MLPH, SLC39A6) u suk odzwierciedla kluczowe wzorce obserwowane w ludzkim raku piersi. Wykazano istotne różnice ekspresji genów ESR1, MLPH, MYBL2 w zależności od statusu genu TP53 oraz w zależności od stopnia złośliwości nowotworu. Otrzymane dane potwierdzają, że ekspresja wybranych genów (m.in. ESR1, FOXA1, MLPH, MYBL2, CDH3) może stanowić cenny wskaźnik prognostyczny i predykcyjny również u psów.
3. Stopień złośliwości histopatologicznej guzów koreluje z parametrami proliferacyjnymi oraz tendencją do większej chemiooporności, co potwierdzono zarówno na poziomie ekspresji genów proliferacyjnych (MYBL2), jak i w testach in vitro - guzy o wyższej złośliwości charakteryzowały się zwiększoną aktywnością proliferacyjną i mniejszą wrażliwością na cytostatyki.
4. Zastosowane chemoterapeutyki (doksorubicyna, karboplatyna oraz fosforan toceranibu), wykazały zróżnicowaną skuteczność w zależności od typu histopatologicznego guza oraz, w niektórych przypadkach, statusu genu TP53. Zaobserwowane różnice wskazują na możliwość istnienia zróżnicowanych mechanizmów odpowiedzi na leczenie w zależności od molekularnego podtypu nowotworu.
5. Różnice w odpowiedzi komórek na chemioterapeutyki w modelu 2D (najskuteczniejsza doksorubicyna) oraz 3D (najskuteczniejsza

ZAKŁAD PATOMORFOLOGII I WETERYNARII SĄDOWEJ
KATEDRA PATOLOGII
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

karboplatyna), mogą wynikać z odmiennych warunków mikrośrodowiska sferoidów (ograniczona dyfuzja, hipoksja, ECM) wpływających na penetrację i skuteczność leków.

6. Komórki pochodzące z guzów z mutacją TP53 wykazywały tendencję do mniejszej oporności na działanie cytostatyków, co sugeruje, że status genu TP53 może modulować odpowiedź na chemioterapię. Wynik ten ma jednak charakter eksploracyjny i wymaga potwierdzenia na większej liczbie próbek w celu określenia znaczenia biologicznego obserwowanego efektu.
7. Model nowotworów gruczołu mlekowego suk posiada istotną wartość translacyjną w badaniach nad rakiem piersi u ludzi. Opracowane i scharakteryzowane linie komórkowe, wraz z uzyskanymi danymi histopatologicznymi i molekularnymi, umożliwiają lepsze zrozumienie mechanizmów inwazyjności, proliferacji oraz oporności lekowej. Przy dalszej walidacji i rozszerzeniu bazy danych model ten może stanowić wartościowe narzędzie w badaniach przedklinicznych ukierunkowanych na rozwój terapii nowotworów.

Moje uwagi odnośnie tego rozdziału są jedynie sugestią o skrócenie wniosków gdyż są moim zdaniem zbyt rozbudowane.

Ostatnimi rozdziałami ocenianej pracy doktorskiej jest "*Bibliografia*" oraz "*Załączniki*", gdzie wyodrębniona bibliografia w liczbie 181 pozycji stanowi bardzo bogate kompendium wiedzy dotyczącej najnowszych badań i może być doskonałym materiałem źródłowym do dalszych prac w tym zakresie tematycznym.

Oceniając rozprawę doktorską mgr inż. Katarzyny Roszkowskiej należy wyraźnie podkreślić aktualność wyboru tematu oraz prawidłowo dobrany



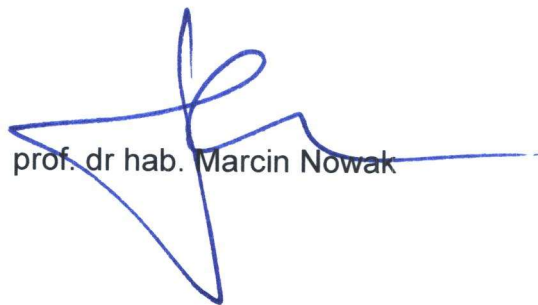
ZAKŁAD PATOMORFOLOGII I WETERYNARII SĄDOWEJ
KATEDRA PATOLOGII
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

wachlarz zaawansowanych metod badawczych. Recenzowana praca stanowi oryginalne opisanie oraz rozwiązanie problemu naukowego, jest prawidłowo zaplanowana i zrealizowana oraz świadczy o dużej zdolności Autorki do wyciągania samodzielnych wniosków. Zarówno cel jak i założenia pracy zostały osiągnięte, a otrzymane wyniki mogą mieć duże znaczenie praktyczne w medycynie weterynaryjnej oraz translacyjnej. Chciałbym podkreślić, że praca doktorska mgr inż. Katarzyny Roszkowskiej jest wykonana starannie, warsztatowo rzetelnie i nienagannie, zgodnie z wszelkimi standardami dotyczącymi tego typu badań naukowych, a uzyskane wyniki stanowią oryginalny i bardzo wartościowy dorobek Autorki.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Roszkowskiej w rzetelny sposób dokumentuje przeprowadzone przez nią badania oraz spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.). Wniosuję zatem do Rady Dyscypliny Weterynaria, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o przeprowadzenie dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia naukowego doktora Pani mgr inż. Katarzynie Roszkowskiej.

Dodatkowo, mając na uwadze znaczenie praktyczne i aplikacyjne poruszanego tematu, wyczerpujące przedstawienie zagadnień oraz bardzo dobre i rzetelne wykonanie badań z wykorzystaniem zaawansowanych technik badawczych, wniosuję o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Wrocław, dnia 09.02.2022

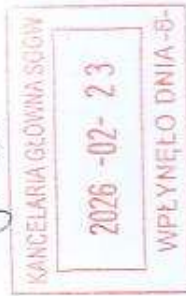


prof. dr hab. Marcin Nowak

CPLATA POBRANIA
TAXE PERÇUE - POL
Umowa z Poczta Polska S.A.
ID nr 610728/D



JMW



w oddzielnej kopercie
za nadeszła uszkodzona

Gz
podpis



Sekretariat Instytutu Medycyny Niekontrolowanej
V Sekcja Główna Gospodarcze Wydziału
w Warszawie

ul. Nawarsynowska 158
02-776 Warszawa

