



**WYDZIAŁ  
MEDYCYNY  
WETERYNARYJNEJ**

# **AUTOREFERAT**

**dr n. wet. Aleksandra Sobczyńska-Rak**

**KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII ZWIERZĄT  
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ  
UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W LUBLINIE**

**Lublin 2018**

**1. Imiona i nazwisko**

**Aleksandra Maria Sobczyńska-Rak**

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne z podaniem nazwy, miejsca i roku uzyskanie oraz tytułu rozprawy doktorskiej**

- Stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych, nadany 29.06.2006 roku uchwałą Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie na podstawie rozprawy doktorskiej pt.: „Angiogeneza w nowotworach u psów”.
- Tytuł zawodowy: lekarz weterynarii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie, 17 kwietnia 1997 r.
- Specjalizacja zawodowa: specjalista w dziedzinie „Choroby psów i kotów”, dyplom nr 4/842/2013 z dnia 07.12. 2013 wydany przez Komisję do Spraw Specjalizacji Lekarzy Weterynarii, Weterynaryjne Centrum Kształcenia Podyplomowego w Puławach

**3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych**

Od roku 1997 do 2018 – Akademia Rolnicza, a następnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie na stanowiskach:

- **2007-2018** – Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie - adiunkt
- **1997-2006** – Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie - asystent

**4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. W Dz. U. z 2016 r. poz. 1311):**

**4. 1. Jednotematyczny cykl publikacji objętych tytułem:**

**„Wartość diagnostyczna i prognostyczna stężeń czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) oraz naskórkowego czynnika wzrostu (EGF) w surowicy psów w przebiegu procesów patologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem nowotworów ”**

Osiągnięcie zostało udokumentowane cyklem 7 oryginalnych prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach

**Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe:**

**4. 1. 1. A. Sobczyńska-Rak**, I. Polkowska, P. Silmanowicz. Elevated vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in the blood serum of dogs with malignant neoplasms of the oral cavity. Acta Vet Hung 2014, 62(3), 362-371.

**(Punkty MNiSW<sub>2014</sub> 20, IF<sub>2014</sub> = 0,646)**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i celu badań, nadzorze nad wykonaniem badań, interpretacji wyników badań immunoenzymatycznych, napisaniu i przetłumaczeniu wstępnej wersji manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 80%.

**4. 1. 2. A. Sobczyńska-Rak**, I. Polkowska, M. Gołyńska, T. Szponder, B. Żylińska W. Łopuszyński. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in dogs suffering from squamous cell carcinoma. Med Weter 2017, 73(5), 289-294.

**(Punkty MNiSW<sub>2017</sub> 15, IF<sub>2017</sub> = 0,197)**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, współudziale w opracowaniu metodyki badań i zbieraniu materiału badawczego, interpretacji statystycznych wyników badań, napisaniu i przetłumaczeniu wstępnej wersji manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 70%.

- 4. 1. 3. A. Sobczyńska-Rak, I. Polkowska, A. Brodzki: Vascular endothelial growth factor in prognosis of splenic malignant tumours in dogs. Bull Vet Inst Pulawy 2014, 58(2), 255-260.**

**(Punkty MNiSW<sub>2014</sub> 15, IF<sub>2014</sub> = 0,357)**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, pobieraniu próbek do badań (pobranie materiału do badań histopatologicznych i immunoenzymatycznych), interpretacji wyników badań, napisaniu i przetłumaczeniu wstępnej wersji manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 90%.

- 4. 1. 4. A. Sobczyńska-Rak, A. Brodzki. VEGF and 17- $\beta$ -estradiol levels after tamoxifen administration in canine hepatoid gland adenomas and hepatoid gland epitheliomas. In Vivo 2014, 28(5), 871-878.**

**(Punkty MNiSW<sub>2014</sub> 20, IF<sub>2014</sub> = 0,974)**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na współudziale w opracowaniu koncepcji badań, określeniu celu badań, współudziale w pobieraniu materiału badawczego, interpretacji wyników badań immunoenzymatycznych, napisaniu i przetłumaczeniu wstępnej wersji manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 50%.

- 4. 1. 5. A. Sobczyńska-Rak, B. Żylińska, Ł. Jarosz, A. Brodzki, M. Tatara. EGF level in hepatoid gland adenomas and hepatoid gland epitheliomas in Dogs After Administering Tamoxifen. In Vivo 2018, 32(5), 1175-1181.**

**(Punkty MNiSW<sub>2017/2018</sub> 15, IF<sub>2017/2018</sub> = 1,116)**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i celu badań, nadzorze i udziale w realizacji doświadczenia, napisaniu wstępnej wersji manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 75%.

- 4. 1. 6. A. Sobczyńska-Rak, B. Żylińska, I. Polkowska, T. Szponder.** Elevated EGF levels in the blood serum of dogs with periodontal diseases and oral tumours. *In Vivo* 2018, 32(3), 507-515.

**(Punkty MNiSW<sub>2017/2018</sub> 15, IF<sub>2017/2018</sub> = 1,116)**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i celu badań, nadzorze nad pobieraniem materiału do badań, interpretacji wyników badań immunoenzymatycznych, napisaniu i przetłumaczeniu wstępnej wersji manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 80%.

- 4. 1. 7. I. Balicki, A. Sobczyńska-Rak.** Serum vascular endothelial growth factor concentration in dogs diagnosed with chronic superficial keratitis. *Acta Vet Hung* 2014, 62(1), 22-32.

**(Punkty MNiSW<sub>2014</sub> 20, IF<sub>2014</sub> = 0,646)**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na współudziale w opracowaniu koncepcji badań, określeniu celu badań, współudziale w pobieraniu materiału badawczego, interpretacji wyników badań immunoenzymatycznych. Mój udział procentowy szacuję na 30%.

**Łączna punktacja 7 prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji, zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi:**

- według listy czasopism punktowanych MNiSW – **120 pkt**
- sumaryczny Impact Factor (IF) według list Journal Citation Reports (JCR) – **5,052**
- łączna liczba cytowań prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji – **7**

**Fotokopie publikacji oraz oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdej z nich w powstanie prac zostały zamieszczone w załączniku**

#### **4. 2. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

Od początku pracy w Katedrze i Klinice Chirurgii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie do chwili obecnej moje zainteresowania naukowe dotyczą onkologii weterynaryjnej. Choroby nowotworowe u ludzi i zwierząt od wielu lat stanowią przedmiot dociekań naukowych wielu badaczy. Pomimo doskonalenia metod diagnostycznych oraz terapii celowanych, nowotwory zajmują czołowe miejsce wśród chorób powodujących zejścia śmiertelne.

Z dostępnej literatury oraz obserwacji własnych wynika, że kluczowym sposobem terapii choroby nowotworowej jest radykalne usunięcie patologicznej zmiany. Pomimo zastosowania leczenia chirurgicznego, trudno jest prognozować wznowę nowotworową na podstawie rutynowych badań laboratoryjnych i klinicznych. Zaistniała więc potrzeba opracowania i wdrożenia do onkologii weterynaryjnej, metody polegającej na pomiarze czynników, które mogłyby ułatwić lekarzom przewidywanie progresji procesu nowotworowego i monitorowanie pacjenta podczas terapii.

W czasie rozważań i poszukiwań naukowych zapoznałam się z mechanizmami onkogenezy, w której znaczącą rolę odgrywa angiogeneza. Jest ona procesem formowania naczyń krwionośnych na bazie już istniejących kapilar, poprzez ich rozgałęzianie i wydłużanie (61). W życiu pozapłodowym w niewielu przypadkach angiogeneza jest procesem pożądanym, poprawiającym stan zdrowia. Fizjologiczne tworzenie naczyń jest zjawiskiem krótkotrwałym podlegającym ścisłej kontroli i zachodzi w stanach rozrostu, odnowy i regeneracji tkanek, jak np.: gojenie ran, regeneracja błony śluzowej macicy po cyklu menstruacyjnym (12). Przesunięcie równowagi na korzyść tworzenia kapilar ma miejsce w wielu stanach patologicznych, takich jak: miejscowe zaburzenia krążenia, niedokrwienie i uszkodzenie tkanek, przewlekłe stany zapalne, obszar martwicy oraz w chorobach układowych: retinopatiach cukrzycowych, hemangiopatiach, reumatoidalnym zapaleniu stawów, łuszczycy i nowotworach (12, 19, 67).

Wytworzenie przez komórki nowotworowe własnej sieci naczyń krwionośnych stanowi istotny element rozwoju guza, ponieważ umożliwia odpowiednie utlenowanie jego komórek oraz zaopatrzenie ich w substancje odżywcze i wzrostowe (6, 32, 58). Prekursorem badań nad unaczynieniem guzów był dr Folkman, który w 1971 r. wysunął koncepcję, że angiogeneza jest warunkiem niezbędnym do wzrostu guza nowotworowego poza stadium *in*

*situ* (stadium przedinwazyjne). Jedynie guz mniejszy niż 1-2 mm<sup>3</sup> może być zaopatrywany w tlen za pośrednictwem dyfuzji z otaczających tkanek. W miarę wzrostu masy guza, komórki nowotworowe pozbawione naczyń stają się niedotlenione i dochodzi do aktywacji dwóch czynników transkrypcyjnych: HIF-1 $\alpha$  (hipoxia inducible factor- 1 $\alpha$ ) i HIF – 2 $\alpha$  (6, 43). Czynniki te promują transkrypcję genów ułatwiających przetrwanie komórek w warunkach hipoksji oraz aktywują promotor genu VEGF-HRE (hypoxia response element) (12, 67). Proces przejścia nowotworu z fazy awaskularnej do unaczynionej to tzw. przejście angiogenne lub przełom angiogeny (angiogenic switch). Polega on na pojawieniu się trwałych modyfikacji genetycznych w komórkach nowotworowych aktywujących geny kodujące czynniki angiogenne (35, 58). Dochodzi do zachwiania równowagi między stymulatorami i inhibitorami procesu oraz lokalnego wydzielania przez komórki nowotworowe czynników angiogennych, które parakrynnie stymulują komórki śródbłonna do proliferacji i przestrzennej organizacji w nowe naczynie krwionośne (42). Komórki nowotworowe zdolne są także do indukcji stanu zapalnego. Pod wpływem mediatorów zapalenia substancje proangiogenne produkowane są również przez makrofagi, neutrofile i limfocyty.

Mechanizm oraz poszczególne etapy angiogenezy przedstawiłam w pracy przeglądowej nie ujętej w jednotematycznym cyklu, opublikowanej w czasopiśmie krajowym („Angiogeneza w nowotworach – czynniki wpływające na rozwój sieci naczyniowej guza oraz ocena neoangiogenezy w preparatach histopatologicznych” – Med. Wet. 2016, 72(9), 542-548). Praca otrzymała wyróżnienie roku 2016 Zarządu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w kategorii: wyróżniająca się praca przeglądowa z zakresu nauk weterynaryjnych, opublikowana w „Medycynie Weterynaryjnej” w 2016 roku

W opublikowanych badaniach własnych wykazałam, że stopień angiogenezy ma wartość diagnostyczną i prognostyczną w nowotworach złośliwych skóry i tkanki podskórnej oraz jamy ustnej.

Indukcja oraz intensywność angiogenezy zależy od równowagi dwóch grup funkcjonalnie przeciwstawnych cytokin tzw. czynników proangiogennych i antyangiogennych (6). Nasilenie syntezy czynników hamujących angiogenezę i obniżenie liczby kapilar zachodzi w stanach nadmiernego rozrostu tkanki łącznej, które cechuje zmniejszone zapotrzebowanie na tlen i składniki odżywcze. Procesy takie występują podczas tworzenia blizny, przy marskości wątroby lub zwłóknieniu płuc (12, 14, 58).

Fascynacja powyższymi czynnikami angiogennymi modulującymi powstawanie naczyń stanowiła kolejny etap mojego rozwoju naukowego i uwzględniała: czynnik wzrostu śródbłonna naczyń - VEGF oraz naskórkowy czynnik wzrostu – EGF.

Większość prac weterynaryjnych opisuje badania VEGF i EGF oraz ich receptorów w tkankach nowotworowych jednak niewiele jest publikacji określających poziom tych czynników w surowicy krwi zwierząt z chorobą nowotworową. Uznałam, że dotychczasowe piśmiennictwo nie dało jednoznacznego opisu zachowania się stężeń VEGF i EGF w surowicy chorych psów i ich korelacji z zaawansowaniem procesu nowotworowego. Konsekwencją tych przemyśleń były badania kliniczne realizowane przeze mnie w Katedrze i Klinice Chirurgii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie od 2006 roku do chwili obecnej. W momencie zainicjowania badań byłam pierwszą osobą w kraju, która je podjęła. Głównym zatem celem przeprowadzonych badań, których wyniki składają się na jednotematyczny cykl publikacji było oznaczenie stężenia VEGF (praca 4.1.1., 4.1.2, 4.1.3, 4.1.4) i EGF (praca 4.1.5, 4.1.6) w surowicy psów z różnego typu nowotworami oraz wykazanie ich przydatności w monitorowaniu pacjentów onkologicznych, szczególnie w przewidywaniu postępu choroby, powstawaniu przerzutów oraz ocenie efektów leczenia. Kolejnym celem przeprowadzonych pionierskich badań było wykazanie, że VEGF jest odpowiedzialny za tworzenie patologicznych naczyń również w rogówce. Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiłam w pracy 4.1.7.

Czynnik wzrostu śródbłonna naczyń - VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) występuje w postaci glikozyłowanego homodimeru o masie cząsteczkowej 46-48 kDa. Do rodziny białek VEGF należą VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E oraz PlGF (Placental Growth Factor). Najlepiej poznanym i wykazującym najsilniejsze właściwości mitogenne jest VEGF-A. Na drodze alternatywnego dojrzewania mRNA powstaje 7 różnych izoform VEGF posiadających odpowiednio 121, 145, 148, 162, 165, 183, 189 i 206 aminokwasów. Izoformy różnią się od siebie właściwościami biochemicznymi i biologicznymi. Krótsze izoformy znajdują się w macierzy komórkowej a dłuższe stanowią swoisty zewnątrzkomórkowy magazyn VEGF. Najbardziej rozpowszechniona oraz najbardziej aktywna biologicznie forma to VEGF<sub>165</sub>. Łańcuch mRNA wszystkich izoform posiada eksony 1-5, zawierające informację wymaganą do rozpoznania specyficznych receptorów (22, 28). VEGF jest wiązany przynajmniej przez trzy różne typy receptorów: VEGFR-1 (Flt-1- fms-like tyrosine kinase-1), VEGFR-2 (KDR- kinase domain region



u człowieka i Flk-1- fetal liver kinase-1 u myszy) oraz VEGFR-3 (Flt-4 – fetal liver kinase 4) należących do rodziny receptorów zawierających domenę kinazy tyrozynowej (7, 8, 63). Receptory VEGFR-1 i VEGFR-2 odgrywają główną rolę w angiogenezie, natomiast receptor VEGFR-3 w limfangiogenezie (22).

Ekspresja VEGF regulowana jest przez szereg mechanizmów. Najważniejszymi są hipoksja i HIF-1 $\alpha$  (Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ ). Czynniki HIF-1 $\alpha$  zwiększa syntezę i uwalnianie VEGF, który wiążąc się z odpowiednimi receptorami-VEGF na powierzchni komórek śródbłonna aktywuje wewnątrzkomórkowe szlaki przekąźnikowe. Dochodzi do aktywacji kinaz i fosfolipaz oraz uruchomienia procesów proliferacji i migracji komórek śródbłonna (20, 43). Stymulacja ekspresji VEGF może również nastąpić pod wpływem cytokin: FGF- $\beta$ , TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , KGF, PGF<sub>2</sub>, IGF-1, interleukin -IL-1, IL -5, IL-6, IL-9, IL-12 lub wskutek mutacji niektórych onkogenów: *src*, *raf*, *ras* oraz genu *p-53*, prowadzących do transformacji nowotworowej (14, 46, 58). Czynniki VEGF poza wpływem na migrację i proliferację komórek śródbłonna, zwiększa także przepuszczalność naczyń krwionośnych (23). Wykazano, że poza rolą naczyniową VEGF aktywuje enzymy odpowiedzialne za destrukcję macierzy pozakomórkowej oraz wpływa na migrację makrofagów i powstawanie białka Bcl-2, które chroni komórki śródbłonna (EC) przed apoptozą – stanowi więc czynnik przetrwania komórek EC (22, 35, 55). VEGF wykazuje również działanie autokrynne, chroniąc komórki nowotworowe przed stresem wywołanym hipoksją, chemioterapią lub radioterapią, zwiększając tym ich przeżycie (24).

Wzmoczoną ekspresję czynnika wzrostu oraz jego receptorów w komórkach nowotworów złośliwych wykazano w guzach skóry, jamy ustnej, gruczole sutkowym, guzach śledziony, chłoniakach oraz mięsakach tkanek miękkich u psów (2, 11, 37, 40, 59, 63, 66). De Queiroz i wsp. wykazali zwiększoną ekspresję VEGF nie tylko w komórkach nowotworowych ale również w tkankach otaczających guz. (44). Ci sami badacze stwierdzili znaczny spadek VEGF po wykonaniu resekcji zmiany nowotworowej.

Podobne wyniki zaobserwowałam w swoich badaniach, w których poziom VEGF w surowicy krwi psów z rozpoznaniem rakiem płaskonabłonkowym skóry uległ zmniejszeniu już po miesiącu od usunięcia zmiany nowotworowej i wykazywał tendencje spadkowe do końca obserwacji (praca 4.1.2). Powyższe wyniki, związane są prawdopodobnie z lokalizacją i wczesnym rozpoznaniem zmian skórnych, które są szybciej zauważane przez właścicieli zwierząt, niż zmiany patologiczne umiejscowione np. w jamie ustnej. Ponadto przy

nowotworach skóry istnieje możliwość wykonania precyzyjnego zabiegu chirurgicznego z zachowaniem radykalności makroskopowej i mikroskopowej.

Zapoznając się z dostępnym piśmiennictwem dotyczącym budowy i funkcji VEGF postanowiłam usystematyzować najważniejsze informacje i opublikowałam je w książce: „Tumor angiogenesis”, w rozdziale 8, pt: „The role of VEGF in the process of neovasculogenesis”, edited by Sophia Ran Rijeka, Croatia, Intech, 181-196, (978-953-51-0009-6. DOI: 10.5772/30233), który nie został ujęty w prezentowanym jednotematycznym cyklu.

Do niedawna w nielicznych opublikowanych na świecie badaniach, do oznaczania poziomu VEGF w surowicy u psów wykorzystywano test ELISA przeznaczony dla ludzi i wykazujący około 80% homologii z VEGF występującym u psów. Dlatego też, aby uwiarygodnić przeprowadzone przeze mnie badania do oznaczenia stężenia VEGF w surowicy psów, wykorzystałam dostępny na rynku od kilku lat i specyficzny gatunkowo test ELISA (Quantikine Canine Immunoassay).

Poza VEGF w patogenezie nowotworów, bierze udział również naskórkowy czynnik wzrostu EGF (Epidermal Growth Factor) (praca 4.1.5, 4.1.6 ). Jest on silnym stymulatorem wzrostu naskórka i nabłonka tkanek, zarówno *in vivo* jak i *in vitro* (51). Został wyizolowany z ekstraktu ślinianki podżuchwowej myszy (31) i po raz pierwszy został opisany w 1962 r. przez Cohena (15). Naskórkowy czynnik wzrostu pobudza wzrost tkanki nabłonkowej za pośrednictwem receptorów (EGFR), których obecność potwierdzono w niezmiennym nabłonku, chondrocytach, makrofagach, płytkach krwi i wielu komórkach mezenchymalnych (65). EGFR był jednym z najwcześniej zidentyfikowanych i opisanych receptorów, odpowiedzialnych za przekazywanie sygnału do wnętrza komórki. Rodzina receptorów naskórkowego czynnika wzrostu składa się z: EGFR-1 (HER1 lub c-erbB1) - będącego receptorem dla EGF i transformującego czynnika wzrostu - TGF $\alpha$ ; EGFR-2 (HER2 lub c-erbB2 ) - nie poznano jego liganda oraz EGFR-3 (HER3 lub c-erbB3 ) i EGFR-4 (HER4 lub c-erbB4 ) - które są receptorami dla neuregulin (45, 54, 57). Ze względu na fakt, że ligandami receptorów rodziny EGFR są czynniki wzrostu, szlaki sygnałowe aktywowane przy ich udziale odpowiadają za prawidłowe procesy związane z proliferacją, różnicowaniem, dojrzewaniem i przeżywaniem komórek naskórka, wzrostem i implantacją zarodka oraz naprawą uszkodzonych narządów (51, 65). Poza tym EGF i jego receptory przy współdziałaniu

z TGF mogą wpływać na proces neoangiogenezy i mają zdolność indukcji syntezy VEGF w komórkach guzów złośliwych (33).

Głównym miejscem syntezy EGF są podżuchwowe i przyusznice gruczoły ślinowe oraz nerki. Ślina stanowi naturalne źródło czynnika, jednak mechanizmy kontrolujące jego wydzielanie nie są jeszcze znane i stanowią obecnie temat wielu badań naukowych. Wraz z mucynami, wodorowęglanami i eikozanoidami, EGF odgrywa bardzo ważną rolę w utrzymaniu anatomicznej ciągłości śluzówki jamy ustnej i jej właściwej funkcji. Wykazuje działanie cytoprotekcyjne w urazach błony śluzowej oraz chroni ją przed szkodliwym działaniem czynników mechanicznych i chemicznych (1, 3). Dowodem potwierdzającym takie działanie jest fakt powstawania patologicznych zmian nabłonka dziąsłowego i opóźnienie gojenia uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej po usunięciu u zwierząt doświadczalnych podżuchwowych gruczołów ślinowych, źródła produkcji EGF (34). W warunkach *in vivo* EGF uczestniczy w gojeniu uszkodzeń skóry i błony śluzowej a jego stężenie znacząco wzrasta bezpośrednio po urazie (16, 47). W warunkach fizjologicznych EGF wpływa także na wzrost oraz naprawę dojrzałych, uszkodzonych narządów, lecz jego nadekspresja może prowadzić do niekontrolowanego podziału komórek i nowotworzenia. Wysokie stężenie EGF nasila procesy: proliferacji, hamowania apoptozy oraz zwiększenia zdolności przeżycia komórek. EGF pełni również funkcję regulatora rekrutacji komórek mięśni gładkich oraz migracji komórek endotelium w czasie formowania światła naczyń podczas angiogenezy.

Obecność EGF i jego receptorów pojawia się i koreluje z agresywnym przebiegiem i niepomyślnym rokowaniem w rakach okolicy głowy i szyi, jajnika, piersi, przełyku, pęcherza moczowego i szyjki macicy u ludzi (9, 16, 25, 51). Prawie 100% ekspresję EGFR stwierdzono na komórkach nowotworów obszaru głowy i szyi u ludzi oraz wykazano, że jest ona 50 - krotnie bardziej nasiloną niż w prawidłowych keratynocytach (3, 65). Podobne wyniki otrzymał Sabbatini, który wykazał, że nadekspresja EGFR wiąże się ze złym rokowaniem w rakach płaskonabłonkowych skóry u kotów (50).

Badania dotyczące naskórkowego czynnika wzrostu w weterynarii koncentrują się głównie na oznaczaniu obecności EGF i jego receptorów na komórkach nowotworowych (3, 27, 39, 49). Publikacje dotyczące stężenia EGF w surowicy krwi zwierząt są nieliczne, co było powodem mojego zainteresowania się tym tematem i przeprowadzenia badań na psach z nowotworami okolicy odbytu oraz jamy ustnej (praca 4. 1. 5 i 4. 1. 6).

W biologii nowotworu bardzo ważną okazała się wymiana sygnałów - tzw. cross-talk, pomiędzy receptorami EGF i VEGF (9, 57), których szlaki przekazywania wewnątrzkomórkowego często są od siebie zależne. Zahamowanie jednego ze szlaków może być niwelowane przez sygnały pochodzące z pokrewnych fragmentów szlaku należącego do drugiego receptora. Stąd, do całkowitego przerwania szlaku odpowiedzialnego za progresję nowotworową może doprowadzić zablokowanie jedynie obu tych receptorów. Ostatnie badania potwierdziły, że aktywność EGF indukuje syntezę VEGF w komórkach nowotworów złośliwych. Dlatego w celu osiągnięcia lepszych przeciwnowotworowych efektów terapeutycznych podejmowane są terapie skojarzone z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych skierowanych równocześnie przeciwko odmiennym celom molekularnym jak VEGF i EGF (9).

Ze względu na to, że VEGF jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za tworzenie patologicznych naczyń był on oceniany także w badaniach własnych u psów z przewlekłym powierzchownym zapaleniem rogówki - PPZR (KSC keratitis superficialis chronica) - praca 4.1.7. Rogówka w odróżnieniu od większości tkanek organizmu jest tkanką pozbawioną naczyń krwionośnych. Brak unaczynienia zapewnia jej przezierność umożliwiającą prawidłowe widzenie (21). W przypadkach gdy naczynia zaczynają wrastać w rogówkę, dochodzi do utraty jej przejrzystości wskutek przesiąkania płynu i lipidów przez nieszczelną ścianę naczyń. Objawia się to obrzękiem i keratopatią lipidową (13). Udowodniono, że angiogenezie rogówki zawsze towarzyszy limfangiogeneza. Nowe naczynia limfatyczne mimo, że są niewidoczne podczas badania klinicznego, powodują zmianę stanu immunologicznego rogówki (4), co jest niezwykle istotne podczas jej przeszczepu.

W prawidłowej rogówce występuje przewaga czynników antyangiogennych nad czynnikami proangiogennymi dzięki czemu utrzymuje ona beznaczyniowość. W przypadkach zaburzeń homeostazy rogówki, takich jak niedotlenienie czy stany zapalne, dochodzi do zaburzenia równowagi czynników angiogennych na korzyść stymulatorów wzrostu naczyń krwionośnych. U psów patognomicznym objawem PPZR jest wrastanie naczyń w rogówkę oraz naciek zapalny, który przyjmuje postać włóknistonacyniowej tkanki. Dochodzi do pigmentacji rogówki i zaburzenia jej przezierności, co w skrajnych przypadkach może doprowadzić do ślepoty zwierzęcia (5).

Nie ustalono ostatecznie czynnika etiologicznego PPZR, a dotychczasowe badania nie dają jednoznacznej odpowiedzi. Istnieje wiele czynników rasowych, środowiskowych,

genetycznych, hormonalnych i indywidualnych predysponujących do rozwoju choroby. Wykazano, że czynniki środowiskowe jak promieniowanie ultrafioletowe światła słonecznego, mogą wywoływać foto-chemiczne zmiany struktur rogówki i doprowadzić do powstawania wolnych rodników i tworzenia antygenów. Poza tym choroba ta występuje częściej u samic, a największą grupę ryzyka stanowią suki po sterylizacji. Pomimo, że chorują głównie owczarki niemieckie, dotychczas nie udowodniono dziedzicznego charakteru PPZR. Ze względu na obecność w surowicy krwi chorych psów wyższego poziomu przeciwciał przeciwjądrowych niż u zwierząt zdrowych, przypuszcza się, że może być ona także chorobą immunologiczną (5).

Analizując dane z piśmiennictwa zaproponowałam pionierską koncepcję badań stężenia VEGF w surowicy krwi psów z przewlekłym powierzchownym zapaleniem rogówki jako czynnika odpowiedzialnego za angiogenezę rogówki. Efektem tego są wyniki badań, które zostały zaprezentowane w pracy 4. 1. 7.

We wszystkich przeprowadzonych badaniach obejmujących osiągnięcie naukowe, grupę doświadczalną stanowili pacjenci Katedry i Kliniki Chirurgii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

#### Omówienie prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji

Praca 4. 1. 1. A. Sobczyńska-Rak, I. Polkowska, P. Silmanowicz. Elevated vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in the blood serum of dogs with malignant neoplasms of the oral cavity. Acta Vet Hung 62(3), 362-371.

Wśród patologicznych rozrostów tkanek jamy ustnej u psów najliczniejszą grupę reprezentują nowotwory złośliwe jak: czerniak, rak płaskonabłonkowy i włókniakomięsak. Do przyspieszenia ich rozwoju predysponują chroniczne stany zapalne przyzębia i drażnienie błony śluzowej jamy ustnej oraz kancerogeny fizyczne i chemiczne. Ze względu na niezauważaną często przez właściciela lokalizację, zmiany mogą obejmować wiele struktur tkankowych jamy ustnej. Guzy cechuje szybki wzrost, powstawanie nacieków w błonie śluzowej i mięśniach oraz duży potencjał przerzutowy do kości czaszki lub płuc, który wyznacza rozległość operacji.

Celem przeprowadzonego doświadczenia było oznaczenie stężenia VEGF w surowicy krwi psów z nowotworami jamy ustnej i zbadanie czy zachodzi zależność pomiędzy poziomem VEGF a stopniem złośliwości badanych nowotworów.

Materiał do badań stanowiły tkanki nowotworowe 17 operowanych psów oraz surowica do badań immunoenzymatycznych. Zwierzęta operowano w Klinice z powodu występowania zmian nowotworowych w obrębie dziąseł. Krew pobierano również od 10 zdrowych psów, różnych ras, w wieku 6-14 lat stanowiących grupę kontrolną. Badanie immunoenzymatyczne surowicy krwi wszystkich objętych doświadczeniem zwierząt przeprowadzono stosując specyficzny gatunkowo test ELISA (Quantikine Canine Immunoassay R&D System, INC Minneapolis USA, supplier BIOKOM).

Badanie histopatologiczne potwierdziło złośliwy charakter 10 nowotworów (raka płaskonabłonkowego, włókniakomięsaka i czerniaka), natomiast w 7 przypadkach stwierdzono nowotwory niezłośliwe (nadziąślaki, włókniaki i jeden przypadek brodawczaka). Stężenie VEGF w przypadkach nowotworów złośliwych wahało się 14,26 - 99,19 pg/ml i w porównaniu z grupą kontrolną oraz grupą psów z nowotworami niezłośliwymi stanowiło wynik istotnie wyższy statystycznie. Najmniejszą wartość stężenia czynnika wzrostu w surowicy krwi psów z nowotworami złośliwymi odnotowano przy włókniakomięsaku, a najwyższe w przypadku raka płaskonabłonkowego. Poziom VEGF w nowotworach niezłośliwych był porównywalny z poziomem wykazany w grupie kontrolnej (mediana wynosiła odpowiednio 8,61 pg/ml i 11,14 pg/ml).

Analizując wyniki przeprowadzonych badań stwierdzono, że VEGF odgrywa istotną rolę w angiogenezie nowotworów jamy ustnej u psów a wysokie stężenie VEGF w surowicy krwi chorych psów ma znaczącą wartość w ocenie złośliwości i jest przydatne w rokowaniu procesu nowotworowego.

Praca 4. 1. 2. A. Sobczyńska-Rak, I. Polkowska, M. Gołyńska, T. Szponder, B. Żylińska, W. Łopuszyński. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in dogs suffering from squamous cell carcinoma. *Med. Weter.* 2017, 73(5), 289-294.

Rak płaskonabłonkowy (SCC) jest nowotworem złośliwym wywodzącym się z komórek keratynizujących skóry lub nabłonka wielowarstwowego nierogowaciejącego: jamy ustnej, płuc, żołądka, pochwy lub pęcherza moczowego (26). Cechuje go szybki wzrost

oraz tendencja do powstawania przerzutów. Na przebieg choroby oraz skuteczność leczenia w dużym stopniu ma wpływ stopień zróżnicowania nowotworu. Raki o wysokim i średnim zróżnicowaniu charakteryzują się powstawaniem przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych, natomiast guzy niskozróżnicowane i niezróżnicowane cechuje szybki wzrost, przerzuty do narządów odległych oraz wysokie tempo wznowy lokalnej (40, 64). Jego obraz kliniczny jest zróżnicowany i zależy od lokalizacji zmian pierwotnych. Rak płaskonabłonkowy jest także jednym z trzech najczęściej występujących nowotworów jamy ustnej u psów. Najskuteczniejszą metodą leczenia jest przeprowadzenie radykalnej resekcji guza.

Celem przeprowadzonych badań było monitorowanie ekspresji VEGF w surowicy krwi psów z rakiem płaskonabłonkowym w korelacji ze stanem ogólnym i tempem powstawania przerzutów.

Badanie wykonano u pacjentów onkologicznych, różnych ras w przedziale wiekowym 5-15 lat. Ze 160 zwierząt wyselekcjonowano 26 psów z histopatologicznym rozpoznaniem raka płaskonabłonkowego. W 11 przypadkach patologiczne zmiany zlokalizowane były w skórze tułowia, 6 w okolicy palców, a 9 w jamie ustnej. Grupę badawczą poddano sześciomiesięcznej obserwacji, w trakcie której trzykrotnie (w dniu rozpoznania oraz po jednym i 6 miesiącach od zabiegu resekcji guza) pobierano krew w celu uzyskania surowicy do immunoenzymatycznego oznaczenia stężenia VEGF. Krew pobierano także od grupy kontrolnej obejmującej 10 zdrowych klinicznie psów w wieku 2-7 lat. Oznaczenie stężenia VEGF w surowicy wykonywano testem ELISA (Quantikine Canine Immunoassay R&D System, INC Minneapolis USA, supplier BLOKOM).

U wszystkich badanych zwierząt z SCC zaobserwowano wzrost stężenia VEGF w surowicy krwi (21,18 - 307 pg/ml) w porównaniu z grupą kontrolną (0,1 - 13,04 pg/ml). W 14 przypadkach w okresie sześciomiesięcznej obserwacji stwierdzono wznowę nowotworową. U 7 z 9 psów z nowotworem jamy ustnej okres remisji trwał tylko jeden miesiąc. W pozostałych rakach wznowy lokalne lub przerzuty do narządów pojawiły się w 7 z 14 osobników dopiero po sześciu miesiącach, ale we wszystkich badanych przypadkach progresji nowotworowej korelowały ze wzrostem VEGF w surowicy krwi.

Z przeprowadzonych badań wynika, że rak płaskonabłonkowy jest nowotworem o dużej złośliwości i inwazyjności, potwierdza to wysokie stężenie VEGF w surowicy krwi wszystkich zwierząt grupy doświadczalnej w dniu rozpoznania. Mimo wykonania radykalnej

resekcji przerzuty pojawiają się w okresie 1-6 miesięcy w zależności od lokalizacji nowotworu. Najszybciej obserwowane są w nowotworach jamy ustnej i guzach dystalnych partii kończyn.

Uzyskane rezultaty pozwalają na wysunięcie wniosku, że VEGF może pełnić rolę markera w diagnozowaniu i prognozowaniu przerzutów raka płaskonabłonkowego skóry i jamy ustnej u psów.

Praca 4. 1. 3. A. Sobczyńska-Rak, I. Polkowska, A. Brodzki. VEGF as a prognostic factor in dogs with splenic malignant tumours. Bull. Vet. Inst. Puławy 2014, 58(2), 255-260.

Znaczący rozwój nowoczesnych metod radiologicznych, ultrasonograficznych i histopatologicznych przyczynił się do szybszej i bardziej precyzyjnej diagnostyki nowotworów śledziony u psów. Duży odsetek zmian nowotworowych tego narządu stanowią rozrosty złośliwe. Mogą wywodzić się one z komórek śródbłonka naczyń krwionośnych - naczyńmięśniaki, z limfocytów - chłoniaki złośliwe oraz tkanek miękkich - włókniakomięśniaki, mięśniaki histiocytarne oraz mięśniaki niezróżnicowane. Zmiany nowotworowe śledziony występują najczęściej w postaci kilkucentymetrowych guzków lub mogą osiągać wielkość kilkunastu centymetrów - jak w przypadku naczyńmięśniaków (11, 53). W masie guza często stwierdza się krwawe wylewy lub ogniska martwicy. W przebiegu choroby nowotworowej pojawiają się niespecyficzne objawy i zmiany hematologiczne, a w przypadku pęknięcia guza może dojść do nagłej śmierci zwierzęcia. W tkance guza szybko dochodzi do powstania własnej sieci naczyń krwionośnych, która poprawia utlenowanie i dostępność substancji odżywczych. Postępowaniem z wyboru w przypadku guzów śledziony jest splenektomia.

W publikacji sformułowano tezę, o wpływie VEGF-u na patologiczną angiogenezę w guzach śledziony. Celem było zbadanie stężenia VEGF w surowicy krwi psów z nowotworami śledziony przed splenektomią oraz w okresie 1 i 6 miesięcy po zabiegu.

Materiał do badań stanowiła tkanka guza, pobrana podczas resekcji od 10 psów różnych ras, w wieku 7-13 lat. Pobrane tkanki pozwoliły na postawienie ostatecznego rozpoznania histopatologicznego. Od badanych zwierząt oraz 10 psów zdrowych stanowiących grupę kontrolną pobierano krew w celu uzyskania surowicy do wykonania badania immunoenzymatycznego. W grupie doświadczalnej krew pobierano trzykrotnie:



przed zabiegiem splenektomii, 1 miesiąc po operacji oraz 6 miesięcy po operacji. Stężenia VEGF oznaczano za pomocą testu immunoenzymatycznego ELISA (Quantikine Canine Immunoassay R&D System, INC Minneapolis USA, supplier BIOKOM). Wykonano analizę statystyczną w celu stwierdzenia, czy zachodzą istotne zależności pomiędzy poziomem VEGF w surowicy krwi zwierząt z nowotworami a grupą kontrolną oraz czy stężenie VEGF może być przydatne do monitorowania stanu zdrowia zwierząt w czasie sześciomiesięcznej obserwacji.

Badanie histopatologiczne potwierdziło złośliwy charakter wszystkich nowotworów. W 7 przypadkach rozpoznano naczyniakomięsaka, a w 3 chłoniaka złośliwego. Stwierdzono podwyższony poziom VEGF w surowicy krwi psów grupy doświadczalnej, którego mediana wyniosła 37,85 pg/ml [15,40 - 307,18 pg/ml] i była znacząco wyższa w porównaniu z grupą kontrolną. Największe wartości czynnika wzrostu zaobserwowano u psów, u których obecne były przerzuty do innych narządów oraz w przypadkach wznowy nowotworowej. Monitorując stan zdrowia badanych zwierząt po zabiegu splenektomii zanotowano zgon przed upływem sześciu miesięcy w połowie przypadków. U psów z remisją nowotworową 6 miesięcy po splenektomii stężenie VEGF uległo znacznemu zmniejszeniu i było porównywalne z wartością stwierdzoną w grupie kontrolnej. Istotnie statystycznie różnice między poziomem VEGF (Me = 64,50) w grupie psów, które nie przeżyły, ze stężeniem VEGF (Me = 26,52) psów z remisją stwierdzono podczas pierwszego pobrania, gdzie mediany różniły się znacząco.

Przeprowadzone badania udowodniły, że wysoki poziom VEGF w surowicy krwi psów z nowotworami śledzony (ponad 45 pg/ml) wskazuje na złośliwy charakter nowotworu już w chwili stawiania rozpoznania i może być uznany za prognostyczny marker przeżycia zwierząt. Wyniki potwierdzają również, że największe szanse na przeżycie mają zwierzęta, u których poziom VEGF w surowicy jest niski i sukcesywnie maleje po wykonaniu zabiegu chirurgicznego, natomiast każdy wzrost stężenia czynnika wiąże się z progresją nowotworową.

Praca 4. 1. 4. Sobczyńska-Rak A., Brodzki A.: VEGF and 17- $\beta$ -estradiol levels after tamoxifen administration in canine hepatoid gland adenomas and hepatoid gland epitheliomas. In Vivo 28(5), 871-878, 2014.

Poważnym problemem terapeutycznym w onkologii są zmiany rozrostowe zlokalizowane w okolicy odbytu u psów. Występują tutaj, poza gruczołami odbytowymi i apokrynowymi gruczołami zatok przyodbytowych, także gruczoły okołoodbytowe - hepatoidalne (10, 30). Są one zmodyfikowanymi gruczołami łojowymi zlokalizowanymi w skórze okolicy odbytu, podstawy ogona, napletka, w okolicy grzbietu, pachwin i wewnętrznej strony ud. Histologicznie stanowią one grupę niesekrecyjnych komórek, które ulegają regresji u samic, natomiast u samców tworzą masy gruczołowe (56).

Spośród nowotworów gruczołów okołoodbytowych występujących u niekastrowanych samców lub sterylizowanych samic najliczniejszą grupę reprezentują gruczolaki i nabłoniaki gruczołów hepatoidalnych. Wykazano, że guzy te pozostają pod wpływem hormonów płciowych, a na powierzchni zarówno zdrowych jak i objętych procesem nowotworowym komórkach gruczołów zlokalizowane są receptory androgenowe (AR) i estrogenowe (ER) (48, 41, 62). Wskutek stymulacji hormonalnej, u starszych psów samców często dochodzi do hiperplazji gruczołów okołoodbytowych, co może wzmacniać progresję w kierunku nowotworzenia. Dane z piśmiennictwa sugerują, że estrogeny działają jako promotory komórek nowotworowych. Pod ich wpływem zwiększa się także stężenie VEGF w nowotworach hormonozależnych, a tym samym wytwarzanie mikronaczyń koniecznych do ekspansji nowotworu (18, 29, 38).

Uważa się również, że czynnikami onkogennymi biorącymi udział w nowotworzeniu jest mutacja genu kodującego białko p53 oraz czynniki wzrostu, a w szczególności VEGF odpowiedzialnego za nowotworową angiogenezę. Wykazano, że VEGF wydzielany jest przez komórki nowotworowe, a jego synteza może być stymulowana przy udziale hormonów (32).

Badania wpływu VEGF na nowotwory tła hormonalnego u psów są nieliczne i dotyczą głównie nowotworów gruczołu sutkowego. Niektórzy stwierdzili, że na drodze autokrynej VEGF stymuluje komórki nowotworu gruczołu sutkowego (2), inni wykazali brak korelacji między ekspresją VEGF i cechami patologicznymi guzów tego gruczołu (52).

Ze względu na hormonozależność, w terapii nowotworów znalazł zastosowanie tamoxifenem. Jest on niesteroidowym lekiem antyestrogenowym, należącym do kategorii selektywnego modulatora receptora estrogenu (SREM - Selective Estrogen Receptors Modulator).

Aktywność przeciwnowotworowa tamoxifenu wynika przede wszystkim z jego aktywności antyestrogenowej, ale posiada także wiele alternatywnych mechanizmów terapeutycznych takich jak: indukcja apoptozy oraz hamowanie proliferacji komórek śródbłonna w procesie angiogenezy poprzez modulację syntezy VEGF (17).

Mimo powszechnego zastosowania tamoxifenu w leczeniu nowotworów piersi u kobiet, jego zastosowanie w nowotworach gruczołu sutkowego u suk okazało się nieskuteczne lub powodowało powikłania w postaci przerostu błony śluzowej pochwy lub ropomacicza (36, 60). Podejmowano także bezskuteczne próby leczenia nowotworów zatok i gruczołów przyodbytowych (36).

Ze względu na brak danych na temat mechanizmów działania leku, podjęłam próbę zastosowania takiego leczenia u psów samców z nowotworami gruczołów okołodbytowych z równoczesnym badaniem procesów wpływających na regresję guzów.

Celem przeprowadzonego doświadczenia była ocena poziomu VEGF w surowicy krwi psów leczonych tamoxifenem z powodu obecności gruczolaków i nabłoniaków okolicy odbytu. W celu monitorowania stężenia VEGF oraz dodatkowo 17- $\beta$ -estradiolu, surowica krwi zwierząt badana było trzykrotnie: przed podjęciem leczenia, jeden miesiąc od rozpoczęcia leczenia i sześć miesięcy od rozpoczęcia leczenia.

Materiał do badań stanowiła surowica krwi 30 wyselekcjonowanych, niekastrowanych samców psów, różnych ras w wieku 9-14 lat leczonych z powodu nowotworów okolicy odbytu. Grupę kontrolną stanowiło 10 psów zdrowych poddanych zabiegowi kastracji.

Poziom VEGF w surowicy krwi grupy doświadczalnej oraz grupy kontrolnej oznaczono używając test immunoenzymatyczny ELISA (Quantikine Canine Immunoassay). Do określenia poziomu 17- $\beta$ -estradiolu zastosowano test ELISA (Immunoenzymatic Assai, Biomerieux, Marcy l'Etoile France).

W badanej grupie 30 zwierząt u 12 psów stwierdzono gruczolaka a u 18 nabłoniaka gruczołów okołodbytowych. U wszystkich badanych zwierząt po jednym miesiącu leczenia tamoxifenem zaobserwowano remisję zmian nowotworowych. W przypadkach gruczolaków remisja trwała co najmniej do szóstego miesiąca obserwacji, natomiast w tym okresie u 10 psów z nabłoniakami zaobserwowano progresję choroby nowotworowej w postaci niewielkich, pojedynczych guzków. W badaniu stężenia VEGF u leczonych psów stwierdzono obniżenie czynnika wzrostu u wszystkich zwierząt jeden miesiąc po rozpoczęciu terapii tamoxifenem. We wszystkich przypadkach z gruczolakami poziom ten sukcesywnie

ulegał zmniejszeniu do szóstego miesiąca od podjęcia leczenia z 13,50 pg/ml do 9,40 pg/ml. Podobną sytuację zaobserwowano u 8 psów z nabłoniakami. U pozostałych 10 psów z rozpoznaniem nabłoniakiem po sześciu miesiącach od rozpoczęcia leczenia stwierdzono wzrost poziomu VEGF od 29,40 do 59,70 pg/ml. Wartości te pokrywały się z kliniczną progresją choroby nowotworowej. W badanej grupie psów oceniano również poziom 17- $\beta$ -estradiolu w surowicy krwi. Otrzymane wyniki zestawiono z poziomem VEGF. U psów z gruczolakami nie stwierdzono korelacji pomiędzy 17- $\beta$ -estradiolem i VEGF w okresie obserwacji. Istotną zależność wartości wykazano natomiast u psów z nabłoniakiem. Wzrost 17- $\beta$ -estradiolu korelował ze wzrostem stężeniem VEGF przed leczeniem oraz sześć miesięcy po rozpoczęciu leczenia.

Przedstawione wyniki dowodzą, że nadekspresja VEGF w surowicy krwi w chwili rozpoznania może sugerować podejrzenie procesu o charakterze inwazyjnym. Jego wzrost po leczeniu stanowi idealny marker prognostyczny progresji nowotworowej i może być wykorzystywane w monitorowaniu pacjentów z nowotworami okolicy odbytu.

Wyniki te potwierdzają również, że podwyższony poziom 17- $\beta$ -estradiolu powoduje wzrost stężenia VEGF w surowicy krwi, a tym samym pobudza angiogenezę i progresję nowotworową.

Praca 4. 1. 5. A. Sobczyńska-Rak, B. Żylińska, Ł. Jarosz, A. Brodzki, M. Tatar. EGF level in hepatoid gland adenomas and hepatoid gland epitheliomas in dogs after administering tamoxifen”. In Vivo 2018, 32(5), 1175-1181.

W procesie onkogenezy guzów okolicy odbytu oprócz hormonów, biorą udział czynniki wzrostu odpowiedzialne za angiogenezę. W przeprowadzonych badaniach u ludzi i zwierząt wykazano, że głównym czynnikiem odpowiedzialnym za wzrost naczyń krwionośnych w guzie jest VEGF. Bardzo ważną funkcję pełni również naskórkowy czynnik wzrostu EGF (Epidermal Growth Factor). Jest silnym stymulatorem wzrostu komórek naskórka i nabłonka, odpowiedzialnym za utrzymanie ich integralności. Jak wspomniano wcześniej nowotwory okolicy odbytu są powszechnie uznawane za guzy hormonozależne, w których głównym czynnikiem onkogennym są hormony płciowe. Dlatego w leczeniu tych nowotworów znalazł zastosowanie niesterydowy lek antyestrogenowy – tamoxifen.

Celem pracy była ocena stężenia naskórkowego czynnika wzrostu – EGF w surowicy psów z nowotworami okolicy okołodbytowej po zastosowaniu zachowawczego leczenia tamoxifenem.

Badania zostały wykonane na 19 pasach, niekastrowanych samcach, u których stwierdzono zmiany nowotworowe okolicy odbytu. Wiek psów wahał się od 6 do 14 lat. Określano stężenie EGF w surowicy krwi psów przed terapią antyhormonalną oraz dokonywano pomiaru stężenia EGF sześć miesięcy po leczeniu. Poziom EGF oznaczono również w surowicy 10 zdrowych psów w wieku 2-7 lat, które poddano kastracji. Stanowiły one grupę kontrolną.

Wykorzystując test ELISA (Immunoenzymatic Assay Biomerieux, Marcy l'Etoile, France) w surowicy krwi psów grupy badawczej stwierdzono podwyższony poziom 17- $\beta$ -estradiolu, dlatego zastosowano jednomiesięczną terapię tamoxifenem. Stężenie EGF oznaczano testem ELISA (Canine Total Epidermal Growth Factor ELISA Kit - MyBioSource, Inc., USA).

U psów z patologicznym rozrostem okolicy odbytu w 10 przypadkach rozpoznano gruczolaka a w 9 nabłoniaka. W obu typach nowotworów stwierdzono znacząco wyższy poziom EGF przed rozpoczęciem leczenia w porównaniu ze stężeniem EGF w surowicy krwi zwierząt grupy kontrolnej. W przypadku gruczolaków stężenie to wahało się w granicach 3,82 - 27,28 pg/ml, natomiast w naczyniakach od 22,95 pg/ml do 184,15 pg/ml. Poziom EGF po sześciu miesiącach od rozpoczęcia terapii tamoxifenem istotnie zmalał do średnio 4,19 pg/ml we wszystkich przypadkach gruczolaków ( $p < 0,001^{***}$ ). Natomiast u 44% psów z nabłoniakiem zaobserwowano znaczny wzrost stężenia EGF. Wysokie stężenie EGF (średnio 42,74 - 112,82 pg/ml) było spójne z badaniem klinicznym, w którym stwierdzono wznowę nowotworową.

Wynik ten potwierdza, że nadekspresja EGF występuje w procesach nowotworowych okolicy odbytu i koreluje dodatnio z progresją nowotworową ( $R_s = 0,732$ ,  $p = 0,039$ ). Określanie stężenia EGF stanowi czynnik prognostyczny i może być wykorzystywane w monitorowaniu pacjentów z chorobą nowotworową okolicy odbytu.

Przeprowadzone badania (praca 4. 1. 4 oraz 4. 1. 5) dowodzą, że terapia hormonalna tamoxifenem jest metodą bezpieczną i skuteczną w leczeniu gruczolaków okolicy okołodbytowej. Natomiast w nabłoniakach jest niewystarczająca i powoduje jedynie wyciszenie procesu nowotworowego. Ze względu na wykazany w badaniach własnych wpływ

czynników wzrostu takich jak: VEGF i EGF na progresję nowotworową, zasadne wydaje się w przyszłości połączenie leczenia hormonalnego z terapią antyangiogenną.

Praca **4. 1. 6. A. Sobczyńska-Rak, B. Żylińska, I. Polkowska, T. Szponder:** „Elevated EGF levels in the blood serum of dogs with periodontal diseases and oral tumours”. In Vivo 2018, 32(3), 507-515.

Patologiczne zmiany w obrębie jamy ustnej u psów, wywołane najczęściej zakażeniami bakteryjnymi wymagają kompleksowego leczenia stomatologicznego. Bardzo ważnym problem stanowią także choroby nowotworowe. Transformacja nowotworowa uwarunkowana jest zaburzeniami ekspresji czynników proangiogennych takich jak: VEGF, FGF, IGF i TGF. Natomiast na pobudzenie proliferacji patologicznych komórek i upośledzenie ich apoptozy wpływa naskórkowy czynnik wzrostu – EGF. Wykazano, że zwiększona ekspresja EGF u ludzi pojawia się i koreluje z inwazyjnością oraz gorszym rokowaniem w rakach okolicy głowy i szyi, jajnika, szyjki macicy, piersi, przełyku i pęcherza moczowego (9, 16, 31, 51).

Celem przeprowadzonych badań było określenie stężenia EGF w surowicy krwi zwierząt ze zmianami chorobowymi zlokalizowanymi w jamie ustnej. Określano stężenie czynnika w surowicy psów ze zmianami nowotworowymi i nienowotworowymi oraz sprawdzano, czy EGF może być wykorzystywany w diagnozowaniu i monitorowaniu pacjentów z nowotworami jamy ustnej.

Badanie przeprowadzono na 30 pacjentach gabinetu stomatologicznego Katedry i Kliniki Chirurgii Zwierząt. Psy podzielono na trzy grupy: I – wyselekcjonowane psy z zaawansowaną chorobą przyzębia (10 osobników), II – psy z nowotworem niezłośliwym (7 osobników) oraz grupę III – psy ze stwierdzonym nowotworem złośliwym (13 osobników). Grupę kontrolną stanowiło 10 klinicznie zdrowych psów w wieku 1-5 lat poddanych sterylizacji.

W grupie psów z patologicznym rozrostem w jamie ustnej materiał do badań histopatologicznych stanowiła tkanka pobrana podczas zabiegu chirurgicznej resekcji guza lub mandibulektomii. W 6 przypadkach, ze względu na zaawansowanie procesu nowotworowego oraz naciekający charakter guza w celu postawienia ostatecznego rozpoznania histopatologicznego pobierano do dalszych badań jedynie fragment guza.

Materiał do badań oprócz zmienionej chorobowo tkanki stanowiła krew objętych doświadczeniem zwierząt oraz psów stanowiących grupę kontrolną, z której uzyskiwano surowicę do badania immunoenzymatycznego, określającego poziom naskórkowego czynnika wzrostu (EGF). Stężenie EGF oznaczano wykorzystując test ELISA (Canine Total Epidermal Growth Factor ELISA Kit - MyBioSource, Inc., USA).

Poziom EGF u psów z nowotworem niezłośliwym – grupa II, był porównywalny z grupą kontrolą. Wzrost stężenia EGF w porównaniu z kontrolą, zaobserwowano w grupie I – psów z zaawansowaną chorobą przyzębia oraz w grupie III – psów z rozpoznanym nowotworem złośliwym jamy ustnej. Największe stężenie EGF w granicach 13,40 – 82,09 pg/ml stwierdzono w raku płaskonabłonkowym.

Analiza statystyczna wykazała czterokrotny wzrost stężenia EGF (średnio z 12, 52 pg/ml do 47,08 pg/ml) w siedmiu przypadkach nowotworów złośliwych jamy ustnej, w których obecne były przerzuty nowotworowe. Wyniki statystyczne dowiodły także, że stężenie EGF koreluje z wielkością guza.

Z przeprowadzanych badań wynika, że wysoki poziom EGF jest ważnym czynnikiem prognostycznym w nowotworach złośliwych jamy ustnej u psów.

Równocześnie, podwyższony poziom EGF u pacjentów z zaawansowanym procesem zapalnym przyzębia oraz z uszkodzeniem błony śluzowej powstającej w przebiegu nowotworów złośliwych stanowi pośredni dowód na udział EGF w procesach regeneracyjnych nabłonka jamy ustnej.

Praca 4. 1. 7 . I. Balicki, A. Sobczyńska-Rak. Serum vascular endothelial growth factor concentration in dogs diagnosed with chronic superficial keratitis. Acta Vet. Hung. 2014, 62(1), 22-32.

Waskulogeneza rogówki występuje w procesach patologicznych oczu u psów takich jak zapalenia lub rany rogówki oraz w chorobach o podłożu immunologicznym, do których należy przewlekłe powierzchowne zapalenie rogówki (PPZR). Dlatego zaistniała potrzeba nieinwazyjnego określenia i monitorowania poziomu VEGF i jego wpływu na angiogenezę rogówki w przypadkach klinicznych PPZR .

Celem badań było określenie stężenia VEGF w surowicy krwi psów z przewlekłym powierzchownym zapaleniem rogówki. Poziom VEGF określano w surowicy chorych psów w poszczególnych stadiach choroby oraz w surowicy psów stanowiących grupę kontrolną.

Badania wykonano u 25 owczarków niemieckich - 14 samców i 11 samic w wieku od 3 do 11 lat, u których podczas specjalistycznego badania okulistycznego rozpoznano PPZR. W zależności od zaawansowania procesu chorobowego grupę badawczą podzielono na dwie podgrupy. Podgrupę pierwszą stanowiły psy, u których neowaskularyzacją objętych było od 1 do 2 kwadrantów obu rogówek, natomiast w podgrupie drugiej neowaskularyzacja obejmowała od 3 do 4 kwadrantów obu rogówek. Grupę kontrolną stanowiło 12 klinicznie zdrowych owczarków niemieckich w wieku od 3 do 9 lat. Od zwierząt pobierano krew w celu określenia poziomu VEGF w surowicy. Do oznaczeń wykorzystano test ELISA (Quantikine Canine Immunoassay; R&D Systems, INC Minneapolis, USA, supplier BIODOK).

W przeprowadzonych badaniach wykazano zwiększony poziom VEGF w surowicy krwi psów chorych na przewlekłe powierzchowne zapalenie rogówki w porównaniu do psów zdrowych. Najwyższe – statystycznie istotne stężenia VEGF stwierdzono u psów w początkowym stadium waskularyzacji. U zwierząt z zaawansowanym procesem chorobowym poziom VEGF był podwyższony, ale statystycznie nieistotny i był niższy w stosunku do wartości u pacjentów we wczesnym stadium choroby. Najmniejsze wartości występowały u pacjentów, u których angiogeneza obejmowała nie mniej niż 3 kwadranty prawej lub lewej rogówki.

Wyniki te potwierdzają, że wzrost stężenia czynnika angiogenego - VEGF świadczy o jego znaczeniu w tworzeniu naczyń krwionośnych występującym we wczesnym stadium przewlekłego powierzchownego zapaleniu rogówki, gdzie obserwuje się intensywne wrastanie naczyń w rogówkę.

Analizując wyniki można wysunąć hipotezę, że VEGF odgrywa istotną rolę w angiogenezie rogówki u psów chorych na PPZR, natomiast za utrzymanie prawidłowej morfologii wykształconej sieci naczyń odpowiadają inne czynniki. Potwierdzenie tego zjawiska wymaga dalszych badań klinicznych.



## WNIOSKI

1. Stężenie VEGF w surowicy krwi psów może być wykorzystywane w diagnostyce różnicowej oraz w prognozowaniu nabłonkowych i mezenchymalnych nowotworów złośliwych.
2. Wzmoczona ekspresja VEGF w surowicy psów z nowotworami skóry i jamy ustnej jest markerem progresji nowotworowej
3. Poziom VEGF stanowi prognostyczny marker czasu przeżycia psów z nowotworami śledziony
4. Wysoki poziom VEGF potwierdza złośliwość i inwazyjność raka płaskonabłonkowego
5. Stężenie VEGF i EGF w surowicy psów z nowotworami okolicy odbytu może być wykorzystywane do monitorowania pacjenta podczas leczenia farmakologicznego.
6. Podczas progresji procesu nowotworowego okolicy odbytu wzrost poziomu 7- $\beta$  -estradiolu koreluje ze zwiększonym poziomem VEGF w surowicy psów.
7. Antyhormonalna terapia guzów okolicy odbytu u psów jest skuteczną metodą zachowawczego leczenia nowotworów niezłośliwych. W nowotworach złośliwych stanowi terapię uzupełniającą chirurgiczną resekcję zmian nowotworowych.
8. Wysoki poziom EGF w surowicy psów z nowotworami jamy ustnej jest ważnym czynnikiem prognostycznym i świadczy o udziale czynnika w procesach regeneracyjnych nabłonka jamy ustnej.
9. VEGF jest czynnikiem biorącym udział w tworzeniu naczyń krwionośnych we wczesnym stadium przewlekłego powierzchownego zapaleniu rogówki.

### Podsumowanie

Przedstawione prace stanowią oryginalne i nowatorskie osiągnięcie, opisujące wybrane zagadnienia związane ze stężeniem czynników angiogennych w surowicy zwierząt ze zmianami patologicznymi i procesami nowotworowymi po zastosowaniu leczenia farmakologicznego i chirurgicznego. Poziomy VEGF i EGF są markerami diagnostycznymi i prognostycznymi w procesach wytwarzania patologicznych naczyń u psów.

Uzyskane wyniki znacząco poszerzają wiedzę w zakresie onkologii weterynaryjnej i stanowią podstawę do dalszych prac badawczych zwłaszcza w zakresie biomarkerów nowotworzenia.

Piśmiennictwo;

1. Agha-Hosseini F, Mohebbian M, Sarookani MR, Harirchi I, Mirzaii-Dizgah I.: Comparative evaluation of EGF in oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. *Acta Med Iran* 2015, 53, 471-475.
2. Al Dassi AN, Haines DM, Singh B, Kidney BA.: Immunohistochemical expression of Vascular endothelial growth factor and Vascular endothelial growth factor receptor 2 in canine simple mammary gland adenocarcinomas. *Can Vet J* 2010, 51, 1109-1114.
3. Ang KK, Berkey BA, Tu X, Zhang HZ, Katz R, Hammond EH, Fu KK, Milas L.: Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res* 2002, 62, 7350-7356.
4. Bachmann B, Taylor RS, Cursiefen C.: Corneal neovascularization as a risk factor for graft failure and rejection after keratoplasty: an evidence-based meta-analysis. *Ophthalmology* 2010, 117, 1300-1305.
5. Balicki I.: Przewlekłe powierzchowne zapalenie rogówki u psów- diagnostyka i terapia. *Med. Weter.* 2008. 64, 40-44.
6. Bałan BJ.: Angiogeneza – problem na miarę XXI wieku. *Nowa Medycyna* 2000, 4, 8-14
7. Bałan, BJ, Słotwiński R.: VEGF and tumor angiogenesis. *Centr Eur J Immunol* 2008, 33, 232–236.
8. Barańska P, Jerczyńska H, Pawłowska Z.: Vascular endothelial growth factor-structure and functions. *Post Bioch* 2005, 51, 13-21.
9. Bergkvist GT, Yool DA.: Epidermal growth factor receptor as a therapeutic target in veterinary oncology. *Vet Comp Oncol* 2011, 9, 81-94.
10. Bray J.: Tumours of the perianal region. *BSAVA Manual of Canine and feline Oncology*, 3<sup>rd</sup> edition . Edited: Dobson J.M and Lascelles B.D.X. 2011.
11. Campos AG, Campos JADB, Sanches DS, Dagli MLZ, Matera JM.: Immunohistochemical evaluation of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in splenic hemangiomas and hemangiosarcomas in dogs. *Open J Vet Med* 2012, 2, 191-195.
12. Carmeliet P, Jain R.: Angiogenesis in health and diseases. *Nat Med* 2003, 9, 653-660.
13. Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT.: Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol* 2001, 12, 242-249.
14. Chechlińska M.: Rola cytokin w procesach nowotworzenia. *Nowotwory* 2003, 6, 648-659.
15. Cohen S.: Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 1962, 237, 1555-1562.
16. Consolaro A, Consolaro MF.: ERM functions, EGF and orthodontic movement or Why doesn't orthodontic movement cause alveolodental ankylosis? *Dental Press J Orthod* 2010, 15, 24-32.
17. Coskun U, Gunel N, Sancak B, Onuk E, Bayram M, Cihan A.: Effect of tamoxifen on serum IL-18, vascular endothelial growth factor and nitric oxide activities in breast carcinoma patients. *Clin Exp Immunol* 2004, 137, 546-551.
18. Dobrzycka B, Kinalski M, Piechocka D and Terlikowski SJ.: The role of estrogens in angiogenesis in the female reproductive system. *Endokrynol Pol* 2009, 3, 210-214.
19. Dulak J.: Molekularne mechanizmy angiogenezy. *J. Biotechnologia* 2000, 48, 135-146.
20. Dvorak HF.: Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002, 20, 4368-4380.
21. Ellenberg D, Azar DT, Hallak JA, Tobaigy F, Han KY, Jain S, Zhou Z, Chang JH.: Novel aspects of corneal angiogenic and lymphangiogenic privilege. *Prog Retin Eye Res* 2010, 29, 208-248.

22. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J.: The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003, 9, 669-676.
23. Flak B, Wawrzyniec K, Kwiatek S, Kawczyk-Krupka A, Czuba Z, Sieroń-Stożny K, Sieroń A.: Vascular endothelial growth factor (VEGF) as a marker for cancer progression – a review. *Acta Bio-Opti Inf Med Biomed Eng* 2013, 4, 205-209.
24. Frenz M, Kaup FJ, Neumann S.: Serum vascular endothelial growth factor in dog with haemangiosarcoma and haematoma. *Res Vet Sci* 2014, 97, 257-262.
25. Gama A, Gärtner F, Alves A and Schmitt F: Immunohistochemical expression of Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) in canine mammary tissues. *Res Vet Sci* 2009, 87, 432–437, 2009.
26. Goldschmidt, M. Hendrick, M.: Tumours of the skin and soft tissue. In: *Tumors in Domestic Animals*, 4th Edit., D. Meuten, Ed., Iowa State Press, 2000, pp. 68-70.
27. Hiraiishi Y, Wada T, Nakatani K, Negoro K and Fujita S.: Immunohistochemical expression of EGFR and p-EGFR in oral squamous cell carcinomas. *Pathol Oncol Res* 12, 87-91, 2006.
28. Holmes CE, Jasielec JE, Levis JE, Skelly J, Muss HB.: The effect of aspirin therapy on circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in tamoxifen-treated women. *J Clin Oncol* 2010, 28, 679-686.
29. Hyder SM, Nawaz Z, Chiappetta C, Stancel GM.: Identification of functional estrogen response elements in the gene coding for the potent angiogenic factor vascular endothelial growth factor. *Cancer Res* 2000, 60, 3183-3190.
30. Jakab C, Rusvai M, Glif P, Kulka J.: Expression of the claudin-4 molecule in benign and malignant canine hepatoid gland tumours. *Acta Vet Hung* 2009, 57, 463-475.
31. Janmaat ML, Giaccone G.: Small-molecule epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Oncologist* 2003, 8, 576-586.
32. Jarosz P, Woźniak B.: Angiogenesis in cancer diseases. *Przeg Med Uniw Rzesz Inst Lekow* 2012, 4, 498-507.
33. Javanbakht J, Tavassoli A, F Sasani F, Sabbagh A, Hassan MA, Samakkhah AS, Shafiee R, Jani M, Alimohammadi S, Samani R, Barati F and Ghalee VR.: An overall assessment of circumanal gland adenoma in a terrier mix breed dog. *Asian Pac J Trop Biomed* 2013, 3, 580-583.
34. Kaczmarek U, Sołtan E, Paradowski L, Waśko-Czopnik D and Grzesiak-Gasek I.: Level of salivary epidermal growth factor in patients suffered from gastro–esophageal reflux disease. *Dent Med Probl* 2006, 43, 535–540.
35. Kerbel RS.: Tumor angiogenesis. *N Engl J Med* 2008, 358, 2039-2049.
36. Kłaczyński W.: Effectiveness of Tamoxifen-Hexal in the treatment of neoplasms in dogs. *Med Weter* 1998, 54, 281-283.
37. Lima TB, Leal LM, Morato GO, Marinho PVT, Garrido E, Moraes PC, De Nardi AB.: Metastasis of squamous cell carcinoma in the pelvis of a dog. *Acta Sci Vet* 2013, 41 (Suppl 1), 1-5.
38. Losordo DW, Isner JM.: Estrogen and angiogenesis: A review. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001, 21, 6-12.
39. Mahendra A, Shreedhar B, Kamboj M, Singh A, Singh A, Agrawal A, Kumar S and Kabiraj A.: Epidermal Growth Factor receptor protein: biological marker for oral precancer and cancer. *J Dent Surg* 2014, 1-7, 2014.
40. Maiolino P, De Vico G, Restucci B.: Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Basal Cell Tumours and in Squamous Cell Carcinomas of Canine Skin. *J Comp Pathol* 2000, 123, 141-145.
41. Millán Y, Guil-Luna S, Reymundo C, Sánchez-Céspedes R, Martín de las Mulas J.: Chapter 7: Sex Steroid Hormones and Tumors in Domestic Animals. *Insights from Veterinary Medicine Intech* 2013, pp 192-214.

42. Mizia-Malarz A, Sobol G, Woś H.: Angiogenesis in the chronic inflammatory diseases and malignancies. *Pol Merk Lek* 2008, 141, 185-189.
43. Moschetta MG, Maschio LB, Jardim-Perassi BV, Gelaleti Gb, Lopes JR, Leonel C, Gonçalves NN, Ferreira LC, Martins GR, Borin TF, Zuccari DA.: Prognostic value of vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  in canine malignant mammary tumors. *Oncol Rep* 2015, 33, 2345-2353.
44. Queiroz GF de, Dagli ML, Meira SA, Matera JM.: Serum vascular endothelial growth factor in dogs with soft tissue sarcomas. *Vet Comp Oncol* 2013, 11, 230-235.
45. Park K, Han S, Shin E, Kim HJ and Kim JY: EGFR gene and protein expression in breast cancers. *Eur J Surg Oncol* 2007, 33, 956-960.
46. Pepetti M, Herman IM.: Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002, 282, 947-970.
47. Piłkuła M, Langa P, Kosikowska P, Trzonkowski P.: Stem cells and growth factors in wound healing. *Postępy Hig Med Dośw* 2015, 69, 874-885.
48. Pisani G, Millanta F, Lorenzi D, Vannozzi I, Poli A.: Androgen receptor expression in normal, hyperplastic and neoplastic hepatoid glands in the dog. *Res Vet Sci* 2006, 8, 231-236.
49. Ribeiro FAP, Noguti J, Oshima CTF, Ribeiro DA.: Effective Targeting of the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) for Treating Oral Cancer: A Promising Approach. *Anticancer Res* 2014, 34, 1547-1552.
50. Sabattini S, Marconato L, Zoff A, Morini M, Scarpa F, Capitani O, Bettini G.: Epidermal growth factor receptor expression is predictive of poor prognosis in feline cutaneous squamous cell carcinoma. *J Feline Med Surg* 2010, 12, 760-768.
51. Sadłecki P, Walentowicz-Sadłecka M and Grabiec M.: Serum epidermal growth factor levels in epithelial ovarian tumours. *Przeg Menopauzalny* 2011, 3, 187-190.
52. Santos AA, Oliveira JT, Lopes CC, Amorim IF, Vicente CM, Gärtner FR, Matos AJ. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor in canine mammary tumours. *J Comp Pathol* 2010, 143, 268-275.
53. Sapiernyński R, Malicka E, Bielecki W, Krawiec M, Osińska B, Sendecka H, Sobczyk-Filipiak M.: Splenomegaly in dogs: a survey of 97 cases. *Medycyna Wet* 2007, 63, 88-91.
54. Sassen A, Rochon J, Wild PJ, Hartmann A, Hofstaedter F, Schwarz S, Brockhoff G.: Cytogenetic analysis of HER1/EGFR, HER2, HER3, and HER4 in 278 breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2008, 10, 1-3.
55. Senger DR.: Vascular endothelial growth factor: much more than an angiogenesis factor. *Mol Biol Cell* 2010, 21, 377-379.
56. Shabadash SA, Zelikina TI: Once more about hepatoid circumanal glands of dogs. History of their discovery and reasons for revision the structural and functional data. *Izv Akad Nauk Ser Biol* 2002, 2, 176-185.
57. Shiomitsu K, Johnson CL, Malarkey DE, Pruitt AF, Thrall DE.: Expression of epidermal growth factor receptor and vascular endothelial growth factor in malignant canine epithelial nasal tumours. *Vet Comp Oncol* 2009, 7, 106-114.
58. Szala S.: Angiogeneza i immunosupresja: jin i jang progresji nowotworów. *Postępy Hig Med Dośw* 2009, 63, 598-612.
59. Taylor KH, Smith AN, Higginbotham M, Schwartz DD, Carpenter D M, Whitley EM.: Expression of vascular endothelial growth factor in canine oral malignant melanoma. *Vet Comp Oncol* 2007, 5, 208-218.
60. Tavares WL, Lavalle GE, Figueiredo MS, Souza AG, Bertagnolli AC, Viana FA, Paes PR, Carneiro RA, Cavalcanti GA, Melo MM, Cassali GD.: Evaluation of adverse effects in tamoxifen exposed healthy female dogs. *Acta Vet Scand* 2010, 52, 67-76.
61. Thielemann A, Kopczyńska Z.: Udział wybranych wskaźników angiogenezy w patogenezie choroby nowotworowej. *Diagn Lab* 2007, 43, 695-706.

62. Tozon N, Kodre V, Sersa G, Cemazar M.: Effective treatment of perianal tumors in dogs with electrochemotherapy. *Anticancer Res* 2005, 25, 839-45.
63. Uchida N, Nagai K, Sakurada Y, Shirota K.: Distribution of VEGF and flt-1 in the normal dog tissues. *J Vet Med Sci* 2008, 70, 1273–1276.
64. Webb JL., Burns R. E., Brown H. M., LeRoy B. E., Kosarek C. E.: Squamous cell carcinoma. *Compend Contin Educ Vet* 2009, 31, 133-142.
65. Wojtukiewicz MZ, Rybałtowski M, Sierko E.: Biologic basis of therapy targeted to EGFR. *Nowotwory J Oncol* 2008, 3, 260-271.
66. Yonemaru K, Sakai H, Murakami M, Yanai T, Masegi T.: Expression of Vascular Endothelial Growth Factor, Basic Fibroblast Growth Factor, and Their Receptors (Flt-1, Flk-1, and Flg-1) in Canine Vascular Tumors. *Vet Pathol* 2006, 6, 971-980.
67. Ziyad S, Iruela-Arispe ML.: Molecular Mechanisms of Tumor Angiogenesis *Genes Cancer* 2011, 2, 1085-1096.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Mój dorobek naukowy nie wchodzący w skład jednotematycznego cyklu obejmuje 17 prac znajdujących się w bazie JCR. Jestem współautorem 15 prac w czasopismach naukowych nieposiadających IF (część B wykazu MNiSW), 2 artykułów popularnonaukowych i 8 doniesień zjazdowych na konferencjach oraz kongresach krajowych i zagranicznych. Jestem także autorem rozdziału w monografii naukowej.

### 5. 1. Dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych

Po ukończeniu studiów w 1997 roku na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie zostałam zatrudniona na stanowisku asystenta w Katedrze i Klinice Chirurgii Zwierząt pod opieką prof. dr hab. Edwarda Komara, gdzie pracuję do chwili obecnej. W celu podniesienia kwalifikacji zawodowych w 1999 roku ukończyłam szkolenie pedagogiczne dla nauczycieli akademickich w Międzywydziałowym Studium Pedagogicznym Akademii Rolniczej w Lublinie.

Od początku mojej pracy w Katedrze i Klinice Chirurgii Zwierząt aktywnie uczestniczyłam w działalności naukowej i dydaktyczno-klinicznej. Okres ten obejmował

zapoznanie się z technikami diagnostycznymi i chirurgicznymi stosowanymi w praktyce lekarsko-weterynaryjnej. Praca w Klinice i kontakt z pacjentem, umożliwiły mi sprecyzowanie swojego profilu naukowo - badawczego, ukierunkowanego na onkologię weterynaryjną. Początkowo dotyczył on diagnostyki i chirurgii onkologicznej nowotworów skóry i tkanki podskórnej oraz tkanek miękkich.

Aby poszerzyć swoją wiedzę w dziedzinie onkologii, a w szczególności nowotworów przewodu pokarmowego, w 2003 roku podjęłam współpracę z II Katedrą i Kliniką Chirurgii Ogólnej Akademii Medycznej w Lublinie. Zapoznałam się z metodami endoskopii diagnostycznej i zabiegowej chorób przewodu pokarmowego, a uzyskaną wiedzę starałam się wykorzystać w mojej działalności naukowo-dydaktycznej. Efektem mojej aktywności w dziedzinie endoskopii były prace naukowe, które zostały opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych w czasopismach o zasięgu krajowym.

1. **A. Sobczyńska-Rak**, D. Różańska. Helicobacter pylori u zwierząt i ludzi. Medycyna Weterynaryjna 2004, 60(2), 132-136.
2. **A. Sobczyńska-Rak**, P. Silmanowicz, D. Różańska, J. Piórkowski, J. Karpiński. Zastosowanie endoskopii w diagnostyce raka krtani u psów. Medycyna Weterynaryjna 2004, 60(10), 1061-1063.
3. **A. Sobczyńska-Rak**, P. Silmanowicz, J. Piórkowski, I. Polkowska, P. Dębiak. Wybrane nowotwory złośliwe jamy ustnej psa. Medycyna Weterynaryjna 2005, 61(1), 66-69.
4. **A. Sobczyńska-Rak**, W. Łopuszyński, P. Silmanowicz, J. Piórkowski. Rak przełyku u psa – ocena endoskopowa i patomorfologiczna. Medycyna Weterynaryjna 2006, 62(5), 550-552.

Najważniejszym wątkiem moich prac badawczych są zagadnienia związane z chirurgią onkologiczną, angiogenezą i czynnikami wpływającymi na powstawanie naczyń krwionośnych w guzie, warunkującymi progresję nowotworową u psów.

Tematem szczególnie istotnym w podejmowanych przez mnie badaniach, była inicjacja procesu nowotworowego oparta na zjawisku angiogenezy. Jest ona procesem złożonym, podczas którego dochodzi do oddziaływania pomiędzy komórkami nowotworowymi oraz mikrośrodowiskiem guza, czego wynikiem jest jego niekontrolowany wzrost. Pod wpływem aktywacji genu kodującego czynniki wzrostowe dochodzi do powstania tzw. fenotypu angiogenego i nadekspresji czynników stymulujących powstawanie patologicznych naczyń.

Zakończeniem powyższego etapu mojej działalności naukowej było uzyskanie na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie w 2006 roku stopnia

doktora nauk weterynaryjnych na podstawie pracy: „Angiogeneza w nowotworach u psów”, której promotorem był Pan prof. dr hab. Piotr Silmanowicz.

## 5. 2. Dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk medycznych wyniki badań zawarte w rozprawie doktorskiej zostały przedstawione w 3 publikacjach naukowych w czasopismach listy A MNiSW

1. **A. Sobczyńska-Rak**. Correlation between plasma VEGF and angiogenesis of skin and subcutaneous tissue cancer in dogs. Bull. Vet. Inst. Pulawy 2009, 53 (3), 503-506.
2. **A. Sobczyńska-Rak**. Angiogeneza w nowotworach skóry i tkanki podskórnej psów. Med. Weter. 2009, 65 (2), 110-114.
3. **A. Sobczyńska-Rak**, I. Polkowska, A. Śmiech, E. Sobolewska. Angiogenesis in malignant oral-cavity tumours in dogs. Bull. Vet. Ins. Pulawy 2009, 53(3), 463-466.

Przez cały okres mojej pracy naukowej poszerzam wiedzę z zakresu onkologii weterynaryjnej. Kolejne podjęte zadanie badawcze miało na celu poznanie mechanizmów rozwoju procesu nowotworowego oraz leczenia farmakologicznego i chirurgicznego nowotworów u psów. Moje zainteresowania oprócz nowotworów skóry oraz jamy ustnej wzbudziły, coraz częściej spotykane w praktyce weterynaryjnej nowotwory narządowe. Chcąc przybliżyć lekarzom praktykującym temat neogenezy tego typu nowotworów opublikowałam 4 prace w czasopismach popularnonaukowych oraz 3 prace w czasopiśmie z listy A MNiSW.

1. **A. Sobczyńska-Rak**, I. Polkowska, A. Śmiech, P. Silmanowicz. Przypadek chłoniaka złośliwego jelita biodrowego u psa.(A case of ileal lymphosarcoma in a dog). Med. Weter. 2008, 64 (7), 889-892
2. **A. Sobczyńska-Rak**, I. Polkowska, A. Śmiech. Rak płaskonabłonkowy jamy ustnej u psa. Mag. Weter. 2009, 18(7-8), 784-787.
3. **A. Sobczyńska-Rak**, M. Orzelski, A. Łojczyk-Szczepaniak, P. Listos, K. Buczek. Rak żołądka u psa. Badanie endoskopowe. Weter. Prakt. 2009, 6 (10), 25-27.
4. A. Brodzki, **A. Sobczyńska-Rak**, P. Brodzki, M. R. Tatara, P. Silmanowicz. Występowanie, etiologia i antyhormonalne leczenie guzów okolicy odbytu u psów samców. Med. Weter. 2014, 70 (10), 638-643.
5. I. Polkowska, K. Putowska, M. Gołyńska, **A. Sobczyńska-Rak**. Nowotwory jamy ustnej - klasyfikacja i leczenie. Mag. Wet. 2016, 25 (228), 18-26.



6. **A. Sobczyńska-Rak**, I. Polkowska, B. Żylińska, M. Gołyńska, T. Szponder. Naczyniakomięsak krwionośny (hemangiosarcoma - HSA) śledziony u psów. Weter. Prakt. 2017, 14 (3), 46-48.
7. **A. Sobczyńska-Rak**, I. Polkowska, B. Żylińska, A. Śmiech, A. Łojczyk-Szczepaniak. Mięśniakomięsak jako rzadki nowotwór pęcherza moczowego – opis przypadku. Med. Weter. 2017, 73 (7), 439-444.

Szczególnie istotnym elementem moich rozważań naukowych stał się proces tworzenia naczyń krwionośnych w guzie oraz rola czynników wpływających na nowotworową angiogenezę - szczególnie czynnik wzrostu śródbłonna naczyń – VEGF. Zapoznałam się z licznymi publikacjami na temat mechanizmów angiogenezy i czynników wyzwalających ten proces. Podsumowaniem i usystematyzowaniem mojej wiedzy były 2 publikacje przeglądowe.

Jedną stanowi rozdział w anglojęzycznej książce: Tumor Angiogenesis pod wydawnictwem INTECH i redakcją Sophia Ran, Rijeka Croatia.

Druga publikacja została wyróżniona przez Zarząd Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w kategorii: wyróżniająca się praca przeglądowa z zakresu nauk weterynaryjnych, opublikowana w „Medycynie Weterynaryjnej” w 2016 roku.

1. **A. Sobczyńska-Rak**: The role of VEGF in the process of neovasculogenesis. W: Tumor Angiogenesis/ edited by Sophia Ran, Rijeka, Croatia, INTECH, 2012, 181-196, Chapter 8, 978-953-51-0009-6, DOI: 10.5772/30233.
2. **A. Sobczyńska-Rak**, P. Silmanowicz, I. Polkowska. Angiogeneza w nowotworach - czynniki wpływające na rozwój sieci naczyniowej guza oraz ocena neoangiogenezy w preparatach histopatologicznych. Med. Weter. 2016, 72 (9) 542-548.

W celu pogłębiania wiedzy dotyczącej chorób małych zwierząt w roku 2011 podjęłam Specjalizacyjne Studia Podyplomowe z zakresu Chorób Psów i Kotów, które zakończyłam pozytywnie zdaniem egzaminem w roku 2013.

W 2017 roku podjęłam także międzynarodową współpracę naukową w zakresie chirurgii i onkologii z Kliniką Małych Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Kownie (Lithuanian University of Health Sciences). Efektem mojej aktywności naukowej była prezentacja wyników badań na wykładzie podczas XV kongresu PTNW w Lublinie (A. Sobczyńska – Rak, I. Polkowska, M. Gołyńska, T. Szponder, B. Żylińska, B.



Grigaleviciene, W. Łopuszyński: „Ekspresja czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) w raku płaskonabłonkowym u psów”). W 2017 roku nawiązałam także międzyuczelnianą współpracę z Prof. dr hab. Wasylem Stefanek i dr Vitą Pritsak Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Narodowego Uniwersytetu Lwowskiego, w zakresie chemioterapii nowotworów u psów. Z przedstawicielami wyżej wymienionych ośrodków naukowych w dalszym ciągu kontynuuję badania i w najbliższym czasie wyniki naszej współpracy zostaną opublikowane.

Oprócz zainteresowania metodami diagnostycznych i prognostycznych w onkologii weterynaryjnej czynnie uczestniczę we wspólnych badaniach naukowych realizowanych w Katedrze i Klinice Chirurgii Zwierząt obejmujących takie zagadnienia jak:

1. etiologia i leczenie zmian patologicznych jamy ustnej u psów i kotów
2. zastosowanie biomateriałów w stomatologii i ortopedii
3. zabiegi fizjoterapeutyczne i regeneracyjne w ortopedii psów

#### **Ad. 1**

Choroby jamy ustnej to problem coraz częściej spotykany w stomatologii weterynaryjnej. Nieleczone choroby przyzębia prowadzą do zmian nie tylko miejscowych ale także ogólnoustrojowych. W ich przebiegu dochodzi do powstania patologicznych kieszeni dziąsłowych, utraty przyczepu łącznotkankowego oraz zaniku wyrostka zębodołowego. W konsekwencji dochodzi do odsłonięcia korzeni i rozchwiania zębów. W przebiegu chorób przyzębia wydzielane są mediatory zapalenia, które wpływają na miejscowe i ogólne procesy zapalne. Stwierdzono, że patogenne bakterie w przebiegu chorób przyzębia mogą przedostawać się do tkanek okołozębowych i krwioobiegu, a następnie do narządów odległych takich jak nerki i serce. Przewlekłe, nieleczone stany zapalne oraz długotrwałe działanie czynników drażniących może być także przyczyną chorób nowotworowych jamy ustnej. Efektem prowadzonych badań naukowych oraz działalności klinicznej w zakresie stomatologii weterynaryjnej były prace z moim udziałem, opublikowane w czasopismach z listy A wykazu MNiSW oraz popularnonaukowych krajowych i zagranicznych.

**Publikacje w czasopismach z listy A MNiSzW:**

1. I. Polkowska, M. Gołyńska, A. Sobczyńska-Rak, K. Putowska, T. Matthews-Brzozowska, A. Szyszkowska, M. Gołyński, A. Chelmiński, I. Capik. Orthodontic treatment of dogs on the basis of modern knowledge and own experience. Bull. Vet. Inst. Pulawy 2014, 58 (4), 645-650.
2. I. Polkowska, A. Sobczyńska-Rak, M. Gołyńska. Analysis of gingival pocket microflora and biochemical blood parameters in dogs suffering from periodontal disease. In Vivo 2014, 28 (6), 1085-1090.
3. M. Gołyńska, I. Polkowska, M. Bartoszcze-Tomaszewska, A. Sobczyńska-Rak, Ł. Matuszewski. Molecular-level evaluation of selected periodontal pathogens from subgingival regions in canines and humans with periodontal disease. J. Vet. Sci. (Seoul. Print) 2017, 18 (1), 51-58.
4. I. Polkowska, A. Sobczyńska-Rak, T. Szponder, B. Żylińska, U. Orzędała-Koszel, I. Capik, Ł. Matuszewski. The Impact of Periodontal Disease on the Heart and Kidneys in Dogs. Kafkas Üniversitesi Vet. Fak. Derg. 2018, 24 (5), 633-638 (Autor korespondencyjny).
5. I. Polkowska, M. Gołyńska, A. Sobczyńska-Rak, A. Dudek, T. Szponder, Ł. Matuszewski. Haptoglobin as a treatment monitoring factor in feline plasmacytic gingivostomatitis. Pol. J. Vet. Sci. 2018, 21 (1), 167-174.

**Publikacje w czasopismach popularnonaukowych:**

1. I. Polkowska, A. Sobczyńska-Rak, P. Silmanowicz, A. Szyszkowska. Metody stabilizacji złamań kości żuchwy. (Methods of mandibula fracture stabilisation.). Med. Weter. 2008, 64 (9), 1083-1086
2. I. Polkowska, A. Sobczyńska-Rak, R. Komsta. Chirurgiczne leczenie złamania żuchwy i szczęki psa. Mag. Wet. 2012, 21 (183), 906-909.
3. M. Gołyńska, I. Polkowska, A. Sobczyńska-Rak. Choroby przyzębia u psów. Życie Wet. 2014, 89 (10), 842-846.
4. I. Polkowska, A. Sobczyńska-Rak. Pislâtravmatični zmini v rotovij porožnini u sobak. Naukovij Visnik Lvivskogo Nacionalnogo Universitetu Veterinarnej Medicini ta Biotehnologij , Lwów 2009 T.11, 2 (41), 239-241.
5. I. Polkowska, A. Sobczyńska-Rak, M. Orzelski, M. Lis. Orthodontic apparatuses in dog. Naukovij Visnik Lvivskogo Nacionalnogo Universitetu Veterinarnej Medicini ta Biotehnologij , Lwów, 2009 T.11, 2 (41), 364-365.

**Ad. 2**

Kolejne podjęte przeze mnie zadania badawcze miały na celu określenie przydatności biomateriałów w stomatologii i ortopedii oraz zastosowania technik medycyny regeneracyjnej

w celu przywróceniu funkcji fizjologicznych oraz odbudowy uszkodzonych tkanek i narządów. Efektem prowadzonych wspólnie z pracownikami Kliniki badań, z zakresu stomatologii oraz ortopedii, nad zastosowaniem biomateriałów w regeneracji tkanek było 6 publikacji w czasopismach krajowych i zagranicznych znajdujących się w bazie JCR oraz 3 doniesienia kongresowe:

1. I. Polkowska, **A. Sobczyńska-Rak**, A. Szyszkowska, J. Koper, A. Ślósarczyk. Zastosowanie hydroksyapatytu w leczeniu ubytków kostnych powstałych w następstwie zmian zapalnych w obrębie szczęki i żuchwy - opis przypadków. Med. Weter. 2012, 68 (7), 436-440.
2. B. Żylińska, E. Stodolak-Zych, **A. Sobczyńska-Rak**, T. Szponder, P. Silmanowicz, M. Łañcut, Ł. Jarosz, P. Różański, I. Polkowska. Osteochondral repair using porous three-dimensional nanocomposite scaffolds in a rabbit model. In Vivo 2017, 31 (5), 895-903.
3. Polkowska, A. Ślósarczyk, **A. Sobczyńska-Rak**, M. Gołyńska, T. Szponder, B. Żylińska. Use of microporous hydroxyapatite material in regenerative treatment of periodontal tissues in dogs: a clinical study. Med. Weter. 2018 IN PRESS, DOI: 10.21521/mw.5985.
4. T. Szponder, J. Wessely-Szponder, **A. Sobczyńska-Rak**, B. Żylińska, R.P. Radzki, I. Polkowska. Application of Platelet-rich plasma and tricalcium phosphate in the treatment of comminuted fractures in animals. In Vivo, 2018, 32(6), 1449-1455.
5. T. Szponder, J. Wessely-Szponder, **A. Sobczyńska-Rak**. The neutrophil response to rabbit antimicrobial extract after implantation into a bone/cartilage defect. In Vivo, 32(6), 1345-1351.
6. B. Żylińska, P. Silmanowicz, **A. Sobczyńska-Rak**, Ł. Jarosz, T. Szponder. Treatment of articular cartilage defect: focus an tissue engineering. In Vivo, 2018, 32(6), 1289-1300.

Doniesienia kongresowe:

1. I. Polkowska, **A. Sobczyńska-Rak**, T. Szponder, A. Szyszkowska. Zastosowanie biomateriałów w leczeniu ubytków kostnych u zwierząt. W: Nauka praktyce: XIV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, Wrocław 13-15 IX 2012 s. 347, Wrocław, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego, 2012, 978-83-7717-104-2
2. I. Polkowska, A. Ślósarczyk, **A. Sobczyńska-Rak**, M. Gołyńska, T. Szponder, B. Żylińska. The Use of Microporus Hydroxiapatite Material in Regenerative Treatment of Periodontal Tissue in Dogs. W: 27 European Conference on Biomaterials (ESB 2015), Krakow, Poland 30 August – 3 September 2015, Vol. 1 s. 382. Kraków 2015, [AGH University of Science & Technology], 978-1-5108-1441-7.
3. B. Żylińska, P. Silmanowicz, E. Stodolak-Zych, **A. Sobczyńska-Rak**, T. Szponder, I. Polkowska, D. Różańska. Odbudowa kości podchrzęstnej z zastosowaniem porowatego biomateriału nanokompozytowego u królików w sześciomiesięcznym okresie obserwacji: ocena kliniczna,

radiologiczna i skaningowa mikroskopia elektronowa. W: Per Scientiam ad Salutem Animalium et Hominum: Materiały kongresowe - XV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, Lublin 22-24 września 2016, 399, Lublin, Wydawnictwo MORPOL s.c, 978-83-940360-2-7.

### **Ad. 3**

Uczestniczę również w realizowanych w Katedrze badaniach dotyczących technik medycyny regeneracyjnej oraz zastosowania w ortopedii i neurologii terapii mezenchymalnymi komórkami macierzystymi.

Zwiększenie częstotliwości występowania chorób związanych z aparatem ruchu u małych zwierząt wymusza konieczność poszukiwania nowych metod terapeutycznych. Wykazano, że ponad 20% psów cierpi z powodu chronicznych zapaleń i zwyrodnień stawów kończyn i kręgosłupa. Przyczyny takiego stanu są różnorodne – od wieku zwierzęcia, predyspozycji genetycznych, urazów mechanicznych po zwiększoną aktywność ruchową.

Obecnie terapią z wyboru u zwierząt ze zmianami w układzie kostno-stawowym i związanym z nimi bólem jest podawanie niesterydowych lub sterydowych leków przeciwzapalnych. Wpływ leków sterydowych ogranicza się głównie do częściowego zahamowania choroby oraz zmniejszenia bólu. Poza tym wiadomo, że długotrwałe ich stosowanie wywołuje działania uboczne tj: hepatopatia, zanik mięśni, owrzodzenia błony śluzowej żołądka lub zespół Cushinga. Dlatego dobrą alternatywą w leczeniu zmian zwyrodnieniowych u psów jest rehabilitacja oraz terapia z zastosowaniem komórek macierzystych. Byłam osobą, która zainicjowała stosowanie zabiegów laseroterapii i hydroterapii w chorobach ortopedycznych i neurologicznych u pacjentów Katedry i Kliniki Chirurgii.

Badania przedkliniczne wykazały, że somatyczne komórki macierzyste szpiku, krwi i tkanki tłuszczowej, zwane mezenchymalnymi komórkami macierzystymi (MSC) stanowią dostępne źródło terapeutycznych komórek macierzystych. Mezenchymalne komórki macierzyste izolowane z podskórnej tkanki tłuszczowej charakteryzuje ekspresja podobnych antygenów powierzchniowych jak przy komórkach izolowanych ze szpiku kostnego oraz mają zdolność indukcji w komórki tkanki chrzęstnej lub kostnej. Mają także ogromny potencjał terapeutyczny w leczeniu chorób zwyrodnieniowych. Komórki macierzyste są wykorzystywane w inżynierii tkankowej do regeneracji uszkodzonych tkanek i znalazły

zastosowanie w terapii genowej jako komórki aktywnie wytwarzające cytokiny i czynniki wzrostu.

Wychodząc naprzeciw aktualnym uwarunkowaniom ekonomicznym starałam się umiejętnie łączyć sferę naukową z koniecznością samodzielnego zdobywania funduszy na badania naukowe, aktywnie aplikując w kolejnych projektach MNiSW oraz NCN, o czym świadczą złożone projekty grantowe (nr 1/1.1.1/2017 POIR.01.01.01-00-0086/17 i nr. 5/1.1.1/2017 pt.: „Opracowanie i wdrożenie autorskiej, nieinwazyjnej metody izolacji allogenicznych komórek macierzystych frakcji zrębu naczyniowego (SVF) w terapii schorzeń ortopedycznych u psów”).

Podjęłam próbę zdobycia funduszy na finansowanie badań w ramach konkursu MINIATURA 1 (nr 379780, pt.: ”Wykorzystanie allogenicznych komórek macierzystych frakcji zrębu naczyniowego w leczeniu choroby zwyrodnieniowej kręgosłupa oraz ich wpływ na czynniki regulujące procesy regeneracji i odpowiedzi immunologicznej”). Zaproponowane badania miały na celu wykazanie wpływu komórek macierzystych na odpowiedź immunologiczną organizmu i reakcję organizmu biorcy. Zarówno projekty grantowe jak i MINIATURA 1 nie zostały zakwalifikowane do finansowania.

Wspólnie z pracownikami Katedry i Kliniki Chirurgii Zwierząt, jestem współwykonawcą prac naukowych zaplanowanych przez Instytut Obróbki Plastycznej z siedzibą w Poznaniu, w ramach projektu badawczego zaakceptowanego do finansowania w 2018-2020 roku pt. „Kompleksowe opracowanie i przygotowanie do wdrożenia nowatorskich rozwiązań implantów w leczeniu zwierząt, narzędzi chirurgicznych do ich implantologii oraz chirurgicznych nici biodegradowalnych dla weterynarii” i złożonego do NCBR w ramach Poddziałania 4.1.4 Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020.

### **5. 3 Działalność popularnonaukowa**

Moja działalność badawcza oraz kliniczna ma na celu popularyzację nauki szczególnie w zakresie chirurgii i onkologii. Zdobytą wiedzę staram się przekazać zarówno studentom jak i praktykującym lekarzom weterynarii, publikując wyniki przeprowadzonych badań w popularnonaukowych czasopismach krajowych oraz prezentując je na kongresach weterynaryjnych:

1. **A. Sobczyńska-Rak**, B. Żylińska, I. Polkowska, P. Silmanowicz, T. Szponder. Wykorzystanie ozonu w leczeniu ludzi i zwierząt. Med. Weter. 2018 INPRESS, il. bibliogr. sum. DOI: 10.21521/mw.5974.
2. **A. Sobczyńska-Rak**, I. Polkowska. Pies ofiarą kłusownictwa. Mag. Weter. 2008, 17(3), 179-180.
3. **A. Sobczyńska-Rak**, P. Dębiak, I. Polkowska. Leczenie operacyjne torbieli prostaty u psa. Weter. Prakt. 2010, 7 (7-8), 12-15.
4. **A. Sobczyńska-Rak**, D. Różańska, P. Dębiak, I. Polkowska, P. Silmanowicz. Wodonercze jako powikłanie kamicy moczowej u psa. Życie Wet. 2012, 87 (5), 397-400.

Doniesienia kongresowe:

1. A. Brodzki, W. Łopuszyński, P. Brodzki, **A. Sobczyńska-Rak**. Kliniczne, hormonalne i immunohistochemiczne monitorowanie efektów farmakoterapii nowotworów okolicy odbytu u psów. W: Nauka praktyce: XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, 13-15 IX 2012, s. 291, Wrocław, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego, 2012, 978-83-7717-104-2.
2. M. Orzelski, M. Słowik-Orzelska, **A. Sobczyńska-Rak**, D. Różańska, A. Milczak, P. Silmanowicz. Wpływ znieczulenia z wykorzystaniem propofolu na stan czynnościowy wątroby u psów. W: Nauka praktyce: XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, 13-15 IX 2012, s. 385, Wrocław, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego, 2012, 978-83-7717-104-2.
3. A. Brodzki, **A. Sobczyńska-Rak**, P. Brodzki, M. R. Tataro, P. Silmanowicz. Ocurrence, ethiology and antihormonal treatment of dogs suffering from perinal glands tumors. W: International Conference "Current Approaches to Health and Diseases in Animals and Humans", Lublin, September 19-20, 2014 115. Lublin, Wydawnictwo MORPOL, 2014, 978-83-940360-0-3 .
4. **A. Sobczyńska – Rak**, I. Polkowska, M. Gołyńska, T. Szponder, B. Żylińska, B. Grigaleviciene, W. Łopuszyński. Ekspresja czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) w raku płaskonabłonkowym u psów. W: Per Scientiam ad salutem Animalium et Hominum: Materiały Kongresowe – XV Kongres Polskiego Towarzystwa nauk Weterynaryjnych , Lublin 22-24 września 2016, s. 399. Lublin, wydawnictwo MORPOL s.c, 978-83-940360-2-7, doniesienie ustne.

**5. 4. Podsumowanie dorobku badawczego**

Rodzaj publikacji	Przed uzyskaniem stopnia doktora			Po uzyskaniu stopnia doktora		
	Ilość	Sum. IF	Pkt MNiSW	Ilość	SumIF	Pkt MNiSW
Publikacje w czasopiśmie naukowym posiadającym IF (część A wykazu MNiSW)	3	0,829	35	24	15,074	390
Publikacje w czasopiśmie naukowym nieposiadającym IF (część B wykazu MNiSW)	2	-	21	13	-	54
Komunikaty zjazdowe/materiały konferencyjne	1	-	-	7	-	-
Autorstwo monografii naukowej/rozdziału				1	-	-
Inne				2	-	-
Razem		0,829	56			444
<b>Łączny IF</b>	<b>15,903</b>					
<b>Łączna liczba pkt MNiSW</b>	<b>500</b>					

Publikacje, w których jestem pierwszym autorem to: 22 prace wykazu MNiSW, 2 publikacje popularnonaukowe, autorstwo rozdziału w monografii naukowej oraz 2 doniesienia konferencyjne.

## **6. Działalność dydaktyczna**

- 6. 1.** W ramach działalności dydaktycznej realizowanej w Katedrze i Klinice Chirurgii Zwierząt prowadzę wykłady i ćwiczenia ze studentami III, IV i V roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej z przedmiotów: „Anestezjologia i chirurgia ogólna”, „Choroby psów i kotów”, „Choroby koni” i „Choroby zwierząt gospodarskich”. Ponadto, biorę udział w realizacji zajęć praktycznych dla studentów V i VI roku podczas staży klinicznych, odbywanych przez studentów w ramach przedmiotów „Choroby koni”, „Choroby zwierząt gospodarskich” i „Choroby psów i kotów”.
- 6. 2.** Opracowałam program autorski z zakresu onkologii weterynaryjnej, który stanowi część nauczania fakultetu „Onkologia weterynaryjna”, prowadzonego w ramach działalności Katedry i Kliniki Chirurgii Zwierząt ze studentami V roku studiów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej.
- 6. 3.** W latach 2010-2013 prowadziłam wykłady i ćwiczenia dla lekarzy weterynarii, z endoskopii układu pokarmowego oraz chirurgii przełyku i żołądka w ramach specjalizacyjnych studiów podyplomowych „Choroby psów i kotów”

## **7. Działalność organizacyjna i popularyzująca naukę**

- 7. 1.** Od 2016 r. członek Polskiego Stowarzyszenia Biomateriałów
- 7. 2.** W okresie od 1 września 2009 r. do 31 lipca 2010 r. uczestnictwo w realizowanym przez UP w Lublinie projekcie współfinansowanym ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego „Z nauki do gospodarki” nr POKL.08.02.01-06-030/09 w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki (Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki, działanie 8.2. Transfer wiedzy, Poddziałanie 8.2.1. Wspieranie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw. Celem projektu było podniesienie poziomu wiedzy z zakresu przedsiębiorczości akademickiej typu spin off /spin out.



## **8. Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego**

- 8. 1.** Zgodnie z uchwałą Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej z dnia 24 marca 2016 r. zostałam powołana na promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim lek. wet. Katarzyny Putowskiej pt: „Przyczyny utraty zębów u psów, badanie zmian właściwości mineralnych i mechanicznych w strukturze zęba oraz analiza pierwiastków: wapnia całkowitego, fosforu nieorganicznego i magnezu u psów poddanych zabiegowi ekstrakcji zębów”. Promotorem pracy doktorskiej jest dr hab. Izabela Polkowska prof. nadzw. UP.

## **9. Inne osiągnięcia w zakresie popularyzacji nauki**

W ramach podniesienia kwalifikacji zawodowych i wykorzystania uzyskanej wiedzy w zajęciach dydaktycznych z chirurgii prowadzonych dla studentów V i VI roku Medycyny Weterynaryjnej odbyłam szkolenia prowadzone przez polskich i zagranicznych wykładowców:

- 9. 1.** Szkolenie i warsztaty podczas XX Kongresu PSLWMZ dla lekarzy pt: „Zastosowanie lasera CO<sub>2</sub> w chirurgii tkanek miękkich. Teoria i praktyka”. 05.10.2012 r. Warszawa, - wykładowca - John. C. Godbold, Jr, USA
- 9. 2.** Szkolenie i warsztaty dla lekarzy weterynarii pt: „Zabiegi laparoskopowe u zwierząt towarzyszących” listopad 2015 r., UP Lublin – wykładowca - dr Nikola Katic, Dipl. ECVS.
- 9. 3.** Cykl szkoleń „Dla osób wykonujących czynności związane z wykorzystaniem zwierząt do celów naukowych lub edukacyjnych „ – grudzień 2015 r., Lublin.

**Publikacje będące wynikiem realizacji powyższych tematów wraz z pełnym wykazem opublikowanych przeze mnie prac naukowych, dokładnymi danymi o działalności dydaktycznej i popularyzującej naukę oraz współpracy krajowej i zagranicznej znajdują się w załączniku 3 i 4 do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego**

Aleksandra Sobczyńska - Rak  
24. 10. 2018 r.