

Dr hab. Andrzej Rychlik, prof. UWM

Katedra Diagnostyki Klinicznej

Wydziału Medycyny Weterynaryjnej

UWM w Olsztynie

**OCENA
PRACY DOKTORSKIEJ**

lek. wet. Marcina Zająca

**pt. „Ocena występowania korelacji pomiędzy klinicznym nasileniem zmian
skórnych ocenianych metodą CADESI 03 a wybranymi parametrami
biofizycznymi skóry w przebiegu atopowego zapalenia skóry psów”**

wykonanej w

Zakładzie Diagnostyki Klinicznej i Dermatologii Weterynaryjnej

Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych Zwierząt

Wydziału Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa Pomorskiego

oraz promotora pomocniczego dr wet. Marcina Szczepanika

Atopowe zapalenie skóry psów (AZS) jest rumieniowo-świądową chorobą o nawrotowym, przewlekłym przebiegu, charakteryzującą się typowym umiejscowieniem zmian i morfologią zmian klinicznych. Według publikowanych danych choruje na nią około 10-30% populacji psów. Zgodnie z definicją przyjętą przez American College of Veterinary Dermatology, atopowe zapalenie skóry jest postacią kliniczną atopii, która jest genetycznie uwarunkowaną predyspozycją do rozwoju IgE-zależnej nadwrażliwości na alergenów środowiskowe z grupy roztoczy kurzu domowego, pyłków traw, drzew, chwastów, grzybów, pleśni oraz alergenów naskórkowych. Obecny stan wiedzy dotyczący etiologii, patogenazy, epidemiologii, objawów klinicznych i leczenia tej choroby nie jest wystarczający, co powoduje, że choroba ta zaliczana jest do grupy chorób nieuleczalnych. Różnorodność objawów

klinicznych atopowego zapalenia skóry psów skłoniła badaczy do wypracowania kryteriów klinicznych ułatwiających rozpoznanie choroby. Najważniejszym narzędziem w badaniu klinicznym pacjentów z AZS do oceny natężenia zmian skórnych są systemy CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index), które polegają na ocenie wybranych zmian na powierzchni skóry. Zastosowany w recenzowanej pracy system CADESI 03 obejmuje ocenę 62 okolic ciała pod kątem występowania rumienia, otarć i lichenizacji skóry. Na podstawie jego oceny punktowej można podzielić pacjentów na grupy ze zróżnicowanym nasileniem objawów klinicznych. System uzyskał rekomendację International Task Force on Canine Atopic Dermatitis jako najbardziej zobiektywizowana ocena zmian klinicznych u psów z atopowym zapaleniem skóry. W praktyce lekarsko-weterynaryjnej stosowane są również próby obiektywnej oceny subiektywnego objawu, jakim jest świąd np. system PVAS (Pruritus Visual Analog Scale) czy PICAD (Pruritus Index for Canine Atopy Dermatitis). Podobne próby obiektywizacji i standaryzacji oceny różnych objawów są poszukiwane w innych działach medycyny ludzkiej i weterynaryjnej np. w gastroenterologii. Takim przykładem może być stosowanie wskaźnika CIBDAI (Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index) wprowadzone przez Jergensa w 2003 roku. Wszystkie wspomniane systemy oprócz niezaprzeczalnych zalet, które wspomagają proces diagnostyczny mają jedną podstawową wadę: wynik badania zależy od wiedzy, doświadczenia oceniającego, lub w przypadku oceny świądu, zdolności obserwacji właściciela czy opiekuna zwierzęcia i dlatego mogą być różnie interpretowane i klasyfikowane. W związku z tym w ostatnich latach w dermatologii u ludzi i zwierząt wprowadzono metody pozwalające na znaczną obiektywizację stopnia nasilenia atopowego zapalenia skóry. Trwają badania wykorzystujące parametry biofizyczne skóry, które odzwierciedlają funkcję barierową naskórka. Parametry takie jak przeznaskórkowa utrata wody, uwodnienie naskórka, ocena odczynu skóry, które lek. wet. Marcin Zając wykorzystał w swoich badaniach mogą bardzo istotnie przyczynić się do rozwoju nieinwazyjnych metod badania w dermatologii weterynaryjnej. W tym kontekście podjęcie przez Doktoranta badań w tym kierunku należy uznać za w pełni celowe i przydatne pod względem poznawczym i aplikacyjnym.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska jest opracowana w oparciu o spójny tematycznie cykl trzech publikacji:

1. Assessment of the relationship between transepidermal water loss (TEWL) and severity of clinical signs (CADESI-03) in atopic dogs” opublikowana w Veterinary Dermatology, punkty MNiSW 40 i IF 1,83 (dane z 2014 roku);
2. Assessment of a correlation between Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI-03) and selected biophysical skin measures (skin hydration, pH, and erythema intensity) in dogs with naturally occurring atopic dermatitis” opublikowana w The Canadian Journal of Veterinary Research, punkty MNiSW 25 i IF 0,90 (dane z 2015 roku).
3. Trzecia pracę pt. „The influence of non-specific anti pruritus treatment with cyclosporine A on transepidermal water loss (TEWL) in natural atopic dermatitis dogs opublikowano w Polish Journal of Veterinary Sciences w roku 2015, punkty MNiSW 20 i IF 0,719 (dane z 2015 roku).

We wszystkich publikacjach lek. wet. Marcin Zajac był pierwszym autorem.

Przedstawiona rozprawa doktorska, będąca podsumowaniem trzech wymienionych publikacji, liczy 40 stron maszynopisu, w tym 4 strony piśmiennictwa (62 pozycje). Ponadto praca zawiera 2 tabele i 23 ryciny przedstawiające wyniki badań. Układ pracy jest zbliżony do klasycznego i obejmuje wstęp, cel badań, materiał i metody, zestawienie i opis wyników, następnie omówienie wyników (dyskusja) i wnioski oraz wykaz piśmiennictwa.

Wstęp pracy obejmujący 7 stron podzielony został na cztery podrozdziały, z których pierwszy został poświęcony omówieniu patogenezы atopowego zapalenia skóry. Doktorant w oparciu o bogate piśmiennictwo, w sposób jasny i czytelny przedstawił współczesny pogląd na nie poznaną jeszcze do końca patogenezę AZS, ze szczególnym uwzględnieniem zaburzeń bariery skórnej. W tym podrozdziale dobrze byłoby umieścić informacje dotyczące uwodnienia i odczynu skóry z uwagi na podjęte przez Doktoranta badania. Interesujący z punktu widzenia klinicysty dermatologa i gastroenterologa jest zamieszczony we wstępie pogląd, że atopowe zapalenie skóry oraz alergia pokarmowa stanowią różne postacie kliniczne tej samej choroby, która może być wywoływana uczuleniami zarówno na alergenы środowiskowe, jak i pokarmowe. Chciałbym jednakże zaznaczyć, że w gastroenterologii alergia pokarmowa jest zaliczana do tzw. enteropatii zależnej od diety (Food Response Enteropathy), do której zaliczane są również przyczyny niealergiczne, spowodowane najczęściej idiosynkrazją. Autor w pierwszej części wstępu napisał, że „nie należy wyodrębniać jako oddzielnych chorób, atopowego zapalenia skóry i tzw. alergizacji pokarmowej, ponieważ te choroby z punktu widzenia klinicznego w większości przypadków nie różnią się objawami”. Można z tym poglądem się zgodzić natomiast z własnej praktyki i danych literaturowych u psów wynika, że stwierdzano przypadki, gdzie w alergii pokarmowej nie stwierdzano zmian skórnych, a wyłącznie występujące objawy gastroenterologiczne. U kotów jest nieco inaczej, bowiem tylko 10 do 15% pacjentów z alergią pokarmową wykazywało objawy ze strony przewodu pokarmowego. Obie klasyfikacje, w aspekcie obecnej wiedzy, wydają się uzasadnione i zdaniem recenzenta stanowią interesujący przyczynek do dalszych badań nad chorobami atopowymi u zwierząt towarzyszących. Drugi podrozdział wstępu autor poświęcił systemom oceny natężenia zmian skórnych u psów (CADESI) z atopowym zapaleniem skóry. Wspominany podrozdział stanowi wprowadzenie do podstawowego zagadnienia, jakiego dotyczy praca doktorska, gdyż nadrzędnym celem podjętych badań było określenie stopnia korelacji między wybranymi parametrami biofizycznymi skóry psów z AZS a systemem CADESI. Trzeci podrozdział dotyczy leczenia atopowego zapalenia skóry ze szczególnym uwzględnieniem cyklosporyny, którą Doktorant zastosował w swoich badaniach. W ostatnim podrozdziale lek. wet. Marcin Zajac omówił przydatność oznaczania parametrów biofizycznych skóry w ocenie stanów dermatologicznych. Wybór i układ podrozdziałów jest z uwagi na metodykę badań jest uzasadniony. Zdaniem recenzenta można było rozszerzyć omówienie parametrów biofizycznych skóry np. o czynniki wpływające na stan uwodnienia naskórka a nieco skrócić podrozdział omawiający cyklosporynę, gdyż informacje dotyczące objawów ubocznych, dawkowania czy interakcji z innymi lekami (w doświadczeniu nie stosowanymi) wydają się w tym opracowaniu zbędne. W dostępnej literaturze niewiele jest publikacji dotyczących korelacji systemu oceniającego nasilenie zmian skórnych w wybranych

okolicach ciała a parametrami biofizycznymi skóry u psów z atopowym zapaleniem skóry. O ile największe zainteresowanie badaczy dotyczyło pomiaru przeznaskórkowej utraty wody u zwierząt zdrowych i dotkniętych AZS, to jednak nie obejmowały one tak szerokiego zakresu analiz różnych okolic ciała, jakie podjęto w badaniach omówionych w recenzowanej pracy. W doświadczeniach nad uwodnieniem naskórka większość badań dotyczyła zwierząt zdrowych oraz wpływu wieku, rasy, płci czy sposobu żywienia na wartości tego parametru. W dostępnej literaturze istnieje tylko kilka prac dotyczących oceny odczynu skóry ale tylko zwierząt zdrowych i w przebiegu infekcji skórnych, natomiast brak jest publikacji omawiających natężenie rumienia w przebiegu chorób skóry. W tym kontekście podjęty temat należy uznać jako bardzo aktualny pod względem poznawczym i aplikacyjnym.

Logicznie i jasno postawiony cel badań obejmował wykazanie, czy istnieje zależność między wybranymi parametrami biofizycznymi skóry a systemem oceny klinicznej natężenia nasilenia zmian skórnych CADESI-03. Autor analizował korelacje pomiędzy CADESI-03 całkowitym oraz różnych okolic ciała a wspomnianymi parametrami biofizycznymi. Doktorant podjął się również wykazania wpływu leczenia przeciwświądowego cyklosporyną A na wartości przeznaskórkowej utraty wody (TEWL).

Wybór ilościowy i jakościowy materiału do badań jest trafny. Metody badania klinicznego i dermatologicznego Autor oparł na ujednoliconym sposobie postępowania dotyczącym rozpoznawania chorób skóry stosowany w Zakładzie Diagnostyki Klinicznej, przyjmując jako zasadę diagnozowania AZS u psów stwierdzenie minimum 5 kryteriów wg Favrota. Schemat powyższego postępowania przedstawia Doktorant w czytelnej i logicznie zestawionej tabeli. Diagnostykę alergologiczną czynnika odpowiedzialnego za rozwój uczulenia przeprowadzono na podstawie testów śródskórnych. Oznaczono ponadto poziomy przeciwciał swoistych Ig E. Powyższe postępowanie zapewniło pełną diagnostykę i pewne rozpoznanie atopowego zapalenia skóry, co świadczy o dobrym przygotowaniu Doktoranta do realizacji pracy. Na podkreślenie zasługuje fakt, że badania wykonano na przypadkach klinicznych zgłaszanych do Zakładu Diagnostyki Klinicznej i Dermatologii UP w Lublinie oraz Przychodni Weterynaryjnej Bafir w Czeladzi. Nadaje to pracy szczególny walor aplikacyjny ale jednocześnie na pewno stwarzało wiele problemów w realizacji pracy doktorskiej. Pewne wątpliwości budzi podział na grupy przy realizacji doświadczenia oceniającego parametry biofizyczne. Badania dotyczące korelacji CADES-03 a TEWL oraz zależność między CADESI-03 a pozostałymi parametrami biofizycznymi skóry tj. uwodnieniem naskórka, odczynem skóry oraz natężeniem rumienia realizowano na różnych grupach pacjentów. Zdaniem recenzenta lepiej byłoby dokonać badań wszystkich ocenianych parametrów i analiz statystycznych na tych samych zwierzętach. Należy jednak zaznaczyć, że wspomniane grupy mają zbliżony skład rasowy i liczebność (26 i 33) oraz wartość CADESI (150,23 i 152). Podobna uwaga dotyczy grupy psów leczonych cyklosporyną A, gdzie przed podaniem leku średnie CADESI wynosiło 173,9 w porównaniu do grupy, w której oceniano korelację między CADESI a TEWL, gdzie wartość wskaźnika wynosiła 150,23 (różnica ok 15 %). Należałoby wyjaśnić jakie stosowano w doświadczeniu postępowanie, w celu wykluczenia innych zapalno-świądowych chorób w grupach badawczych. Autor zaznacza, że w grupie pacjentów poddanych leczeniu cyklosporyną A takie postępowanie polegało na badaniu włosa, zeszkrobiny

i stosowaniu diety eliminacyjnej, natomiast w opisie grupy, w której oceniano korelację pomiędzy CADESI a TEWL Doktorant wspomina tylko, że zastosowano kompleksowe rutynowe postępowanie dermatologiczne. Na szczególne podkreślenie zasługuje wykonanie badań biofizycznych w oparciu o nowoczesną aparaturę badawczą. W doświadczeniu stosowano aparat Courage Khazaka multi Probe Adapter 5 z wymiennymi sondami. Wykorzystanie przez Doktoranta aparatury koncernu Courage and Khazaka, światowego lidera urządzeń służących do analizy parametrów skóry, zapewnia wysoką jakość i wiarygodność uzyskanych wyników.

W następnym rozdziale Autor na 15 stronach przedstawia wyniki badań uzyskane u zwierząt poszczególnych grup, zamieszczając w tekście 23 ryciny przedstawiające wyniki analiz statystycznych. Wyniki badań potwierdzają słuszność koncepcji i założeń Autora. Lek. wet. Marcin Zając wykazał występowanie pozytywnych korelacji pomiędzy CADESI-03 a TEWL na małżowinie usznej, grzbiecie nosa i przestrzeni międzypalcowej. Wykazał również istnienie zależności między miejscowym CADESI a wartościami TEWL dla okolicy pachy, pachwiny i przestrzeni międzypalcowej, gdzie współczynnik r wynosił 0,77. O znacznej zależności między badanymi parametrami świadczy fakt, że pozytywne korelacje wykazano w 5 okolicach na 10 przebadanych.

Interesujące wyniki Doktorant uzyskał badając stopień uwodnienia naskórka. Lek. wet. Marcin Zając poddając krytycznej analizie wspomniany parametr stwierdził, że jest on mniej przydany w porównaniu do TEWL do monitorowania natężenia procesu chorobowego, gdyż korelację pomiędzy poddanymi analizie parametrami wykazano jedynie w 2 na 10 badanych okolic ciała. Spostrzeżenia autora mogą pośrednio wspierać badania Favrot i wsp z 2010 roku, w których stwierdzono, że stopień suchości skóry, jak i łojotoku wykazują statystycznie małą istotność w rozpoznawaniu atopowego zapalenia skóry.

W badaniach nad atopowym zapaleniem skóry w kraju i na świecie dotychczas nie wykonano oceny natężenia rumienia. Uzyskane przez Autora wyniki wskazują na dodatnią korelację tego parametru z całkowitym współczynnikiem CADESI i CADESI miejscowego w przestrzeni międzypalcowej. Doktorant słusznie zauważa, że wartość diagnostyczna tego wskaźnika u psów dotkniętych AZS jest mniejsza niż u ludzi, gdyż w większości badanych miejsc korelacji między ocenianymi parametrami nie stwierdzono.

Podobnie krytycznej analizie Autor poddał wyniki dotyczące oceny odczynu skóry. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że w przebiegu atopowego zapalenia skóry następuje wzrost pH skóry. Lek. wet. Marcin Zając wykazał dodatnią korelację jedynie na trzech badanych okolicach, więc słusznie uznał, że w atopowym zapaleniu skóry w porównaniu do ludzi, u psów ma on mniejsze znaczenie w diagnostyce tej choroby. Należy jednak podkreślić fakt, że takich badań u psów dotychczas nie wykonano i mogą być cennym uzupełnieniem diagnostyki AZS.

Bardzo interesujące wyniki uzyskał Doktorant badając wpływ nieswoistego leczenia cyklosporyną A na przeznaskórkową utratę wody. Uzyskane wyniki wskazują, że badanie TEWL może być stosowane w monitorowaniu postępów leczenia w przypadku AZS u psów. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że spadek TEWL wyprzedza poprawę kliniczną

ocenianą przy pomocy CADESI. Bardzo interesujące wyniki swoich badań doktorant przedstawił jednak w sposób skrótowy, ograniczając je do wykresów analizy statystycznej najistotniejszych zmian. Taka forma prezentacji jest oczywiście pożądana w przypadku prezentacji wyników w publikacjach. Proponuję jednak, aby w pracy doktorskiej, która jest formą dokumentacji przeprowadzonych badań, uwzględnić wyniki wszystkich badanych parametrów nawet wówczas, kiedy nie stwierdzono korelacji między badanymi wskaźnikami.

W kolejnym rozdziale pracy zatytułowanym „Dyskusja” Doktorant komentując uzyskane wyniki badań klinicznych i biofizycznych przeprowadza ich dogłębną analizę porównując je danymi z piśmiennictwa krajowego i zagranicznego. Znaczna liczba pozycji piśmiennictwa, a także trafny wybór cytowanych pozycji świadczy o bardzo dobrym opanowaniu przez doktoranta zagadnień dermatologicznych u psów. Należy podkreślić, że komentując wyniki dotyczące oceny natężenia rumienia, czy odczynu skóry w przebiegu AZS u psów lek wet. Marcin Zając miał utrudnione zadanie, gdyż nie były one dotychczas prezentowane w dostępnej literaturze.

Przedstawione, jako szósty rozdział dysertacji, wnioski w pełni znajdują uzasadnienie merytoryczne w uzyskanych wynikach badań klinicznych i biofizycznych. Zdaniem recenzenta każdy z wniosków można ograniczyć do ostatnich zdań, gdyż wcześniejsze są podsumowaniem wyników badań.

Praca napisana jest czytelnym i zrozumiałym językiem. Z obowiązku recenzenta pragnę jednak zwrócić uwagę na pewne drobne niedoskonałości redakcyjne pracy:

- W rozdziale Materiał i metody Autor opisując ten sam stopień natężenia zmian klinicznych w AZS raz używa słowa „umiarkowane” str. 17 wers 4 a w rozdziale Wyniki na str. 17. wers 4 słowa „średnie”.
- W rozdziale Materiał i metody brakuje odpowiedniej numeracji zadań
- Skrót ZDK na stronie 12. wers 12 należałoby rozwinąć do pełnej nazwy Zakład Diagnostyki Klinicznej lub wstawić powyżej, kiedy pełna nazwa jest podawana.
- Na stronie 34. należałoby uzupełnić wyjaśnienie dotyczące wzrostu odczynowości skóry spowodowane zaburzeniami w metabolizmie lipidów o odpowiednią pozycję literaturową
- W rozdziale Piśmiennictwo: brak akapitów lub numeracji wyznaczających kolejne pozycje literaturowe, brak ujednolicenia w zapisie nazwisk i imion autorów oraz stron wymienianych publikacji

Przedstawiane w niniejszej recenzji uwagi należy traktować jako dyskusyjne. W najmniejszym stopniu nie obniżają one wartości merytorycznej pracy. Reasumując ocenę całokształtu dysertacji, pragnę jeszcze raz podkreślić trafność i przydatność tematu. Przeprowadzone badania zostały wykonane przy użyciu w pełni nowoczesnych metod badań dermatologicznych. O wysokiej wartości merytorycznej recenzowanej pracy świadczy fakt, że wyniki badań opublikowano w czasopiśmie o łącznym IF 3,449, co w przypadku prac badawczych o charakterze klinicznym, należy uznać za wynik bardzo dobry. Recenzowana praca doktorska lek. wet Marcina Zająca wnosi znaczący wkład do postępu wiedzy dotyczącej

diagnostyki AZS u psów. Oprócz niewątpliwych wartości poznawczych, posiada też duże znaczenie aplikacyjne w aspekcie klinicznym.

Dysertacja na stopień doktora weterynarii **lek. wet. Marcina Zajęca** spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym. Przedkładam więc Wysokiej Radzie Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie wniosek o dopuszczenie **lek. wet. Marcina Zajęca** do dalszego etapu przewodu doktorskiego.

Olsztyn, 29 Listopada 2016

Dr hab. Andrzej Rychlik, prof. UWM

