

AUTOREFERAT

dr n. wet. Izabella Dolka

Zakład Patomorfologii Zwierząt
Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa, 2018

1. Imię i nazwisko

Izabella Dolka

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

- 2000-2006 Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,
Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
tytuł zawodowy lekarza weterynarii (marzec 2006),
studia ukończone z wynikiem bardzo dobrym,
wyróżnienie ‘*Primus Inter Pares*’ w 2012 r. w uczelnianej edycji konkursu.
- 2006-2010 Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,
Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych (czerwiec 2010),
Tytuł rozprawy doktorskiej: Ekspresja receptorów dla hormonów steroidowych
oraz białek pro- i antyapoptotycznych w nowotworach gruczołu sutkowego
suk.
Rozprawa doktorska wyróżniona dyplomem uznania.
Promotor: prof. dr hab. Tomasz Motyl (od kwietnia 2009),
prof. dr hab. Elżbieta Malicka (zm. 23 marzec 2009).
Recenzenci: dr hab. Antoni Schollenberger, prof. nadzw SGGW,
prof. dr hab. Tadeusz Rotkiewicz.
- 2009-2010 Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,
Wydział Nauk Humanistycznych,
studia podyplomowe w zakresie doskonalenia pedagogicznego,
studia ukończone z wynikiem bardzo dobrym.
- 2013-2015 Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,
Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
studia podyplomowe w zakresie weterynaryjnej diagnostyki laboratoryjnej,
studia ukończone z oceną bardzo dobrą,
tytuł: specjalista weterynaryjnej diagnostyki laboratoryjnej.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych

01.01.2012 – obecnie, adiunkt, Zakład Patomorfologii Zwierząt, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

31.12.2009 – 31.12.2011 asystent, Zakład Patomorfologii Zwierząt, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

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. nr 65 poz. 595 Ze zm.)

A) Tytuł osiągnięcia naukowego:

jedno-tematyczny cykl publikacji objęty tytułem:

Ocena przydatności diagnostycznej i prognostycznej wybranych markerów guzów gruczolu sutkowego suk oznaczanych w badaniu immunohistochemicznym oraz cytologicznym

B) Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe

4.1.1. Prace oryginalne

1. Dolka I.*, Sapieryński R., Król M.: Retrospective study and immunohistochemical analysis of canine mammary sarcomas. BMC Veterinary Research. 2013, 9:248. doi: 10.1186/1746-6148-9-248. (MNiSW₂₀₁₃: **35 pkt.**, IF₂₀₁₃ **1.743**)

Mój udział (90%) polegał na zaplanowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu metodyki badań, przeglądzie piśmiennictwa, zbieraniu materiału, wykonaniu doświadczeń – wykonanie i ocena immunohistochemiczna, ocena histopatologiczna; na zbieraniu informacji klinicznych o pacjentach, analizie i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu rycin, tabel, napisaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym (*).

2. Dolka I.*, Król M., Sapieryński R.: Evaluation of apoptosis-associated protein (Bcl-2, Bax, cleaved caspase-3 and p53) expression in canine mammary tumors: An immunohistochemical and prognostic study. *Research in Veterinary Science*. 2016, 105, 124–133. doi:10.1016/j.rvsc.2016.02.004. (MNiSW₂₀₁₆: **35 pkt.**, IF₂₀₁₆: **1.298**)

Mój udział (90%) polegał na zaplanowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu metodyki badań, przeglądzie piśmiennictwa, zbieraniu materiału, wykonaniu doświadczeń – wykonanie i ocena immunohistochemiczna, ocena histopatologiczna; na zbieraniu informacji klinicznych o pacjentach, analizie i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu rycin, tabel, napisaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym (*).

3. Dolka I.*, Czopowicz M., Gruk-Jurka A., Wojtkowska A., Sapieryński R., Jurka P. Diagnostic efficacy of smear cytology and Robinson's cytological grading of canine mammary tumors with respect to histopathology, cytomorphometry, metastases and overall survival. *PLoS One*. 2018, 13(1):e0191595. doi: 10.1371/journal.pone.0191595. eCollection 2018. (MNiSW₂₀₁₆: **40 pkt.**, IF₂₀₁₆: **2.806**)

Mój udział (85%) polegał na zaplanowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu metodyki badań, uzyskaniu środków finansowych na badania i publikację manuskryptu, przeglądzie piśmiennictwa, zbieraniu materiału, wykonaniu doświadczeń – wykonanie i ocena badań cytopatologicznych, ocena histopatologiczna, cytomorfometryczna; na zbieraniu informacji klinicznych o pacjentach, analizie i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu rycin, tabel, napisaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym (*).

4.1.2. Praca przeglądowa, która podsumowuje wiedzę na temat markerów nowotworowych guzów gruczołu sutkowego suk

4. Dolka I.*, Sapieryński R.: Badanie histopatologiczne w onkologii weterynaryjnej. Część IV. Nowotwory gruczołu sutkowego u suk. *Życie Weterynaryjne*. 2018, 93, 247-255. (MNiSW₂₀₁₆: **4 pkt.**)

Mój udział (80%) polegał na uczestnictwie w opracowaniu koncepcji, przeglądzie aktualnego piśmiennictwa, napisaniu publikacji, przygotowaniu rycin, tabel. Jestem autorem korespondencyjnym (*).

Łączna punktacja prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji zgodnie z rokiem opublikowania:

Suma punktów (MNiSW) wynosi: 114 punktów

Łączny impact factor wg listy JCR wynosi: 5.847

Według wykazu czasopism naukowych zawierający historię czasopisma z publikowanych wykazów za lata 2013-2016 listy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Dla publikacji z roku 2018 (publikacja 3) podano aktualny IF oraz punkty MNiSW z roku 2016.

Kopie publikacji oraz oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie pracy znajdują się w **Załącznikach 4 i 5** do Wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego.

4.2. Omówienie celu naukowego prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

4.2.1. Wprowadzenie

Moje zainteresowanie nowotworami gruczołu sutkowego u suk wiąże się z już kilkuletnimi badaniami prowadzonymi w Zakładzie Patomorfologii Zwierząt Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie oraz wpisuje się w trwający na świecie od wielu lat nurt naukowy dążący do opracowania czynników (markerów) nowotworowych dla pacjentów onkologicznych oraz udoskonalenia klasyfikacji histopatologicznej guzów gruczołu sutkowego psów.

Nowotwory gruczołu sutkowego psów (ang. canine mammary tumors – CMTs) stanowią częsty problem w praktyce weterynaryjnej, dotyczący przede wszystkim suk nie poddanych owariohisterektomii (ang. ovariohysterectomy – OVH). Jeszcze kilka lat temu nowotwory złośliwe sutka stanowiły 50% wszystkich guzów tego gruczołu, jednakże według własnych obserwacji i najnowszych danych literaturowych obecnie odsetek ten przekracza już 70% i nowotwory złośliwe stanowią częstą przyczynę śmierci tych zwierząt (20-55%; 5, 6, 11, 26, 35, 41).

Od dawna poszukiwano podobieństw pomiędzy nowotworami gruczołu sutkowego psów a rakiem piersi u kobiet (ang. human breast cancer – HBC) w aspekcie klinicznym, morfologicznym, jak i molekularnym. Z uwagi na stwierdzone liczne podobieństwa, m.in. częstość występowania (rak piersi u kobiet jest najczęściej diagnozowanym nowotworem złośliwym z wyłączeniem nie-czerniakowych nowotworów złośliwych skóry), predyspozycje płciowe i wiekowe (zachorowalność – głównie u samic, wzrasta wraz z wiekiem), czynniki

ryzyka (np. wpływ hormonów płciowych, przebywanie w zbliżonych warunkach środowiskowych), umiejscowienie przerzutów (regionalne węzły chłonne, płuca), wysokie podobieństwo genomu psa do genomu człowieka (około 80%, zatem jest on bliższy człowiekowi niż genom myszy, czy szczura) – już w latach 50-tych XX wieku zaproponowano wykorzystanie spontanicznych guzów gruczołu sutkowego suk jako modelu badawczego nad biologią i terapią raka piersi u kobiet (32, 34). Ostatnie publikacje podkreślają wiele zalet tego modelu w porównaniu do klasycznych badań *in vitro* (z wykorzystaniem linii komórek nowotworowych) i *in vivo* z wykorzystaniem modeli myszy (ksenografty), z którymi związane są ograniczenia. Przykładowo, linie komórek nowotworowych nie odzwierciedlają realnych mechanizmów regulatorowych w prawidłowej komórce/tkance, modele mysie wymagają zmian w układzie odpornościowym, co w konsekwencji nie odzwierciedla rzeczywistej reakcji obserwowanej u pacjenta, trudności w ocenie reakcji pacjenta na zastosowane leczenie, czasu przeżycia pacjentów, czy interakcji między komórkami nowotworowymi a ich mikrośrodowiskiem (przerzuty, naciekanie) (26, 33).

W związku z intensywnym rozwojem metod diagnostycznych w weterynarii wzrosły oczekiwania lekarzy weterynarii oraz właścicieli zwierząt, którzy chcą uzyskać informację nie tylko odnośnie samego rozpoznania nowotworu, ale również zasięgnąć opinii na temat rokowania przebiegu choroby u pacjenta, czasu przeżycia oraz ryzyka nawrotu choroby. Chociaż w literaturze pojawia się coraz więcej informacji na temat czynników prognostycznych (rokowniczych) u suk z nowotworem gruczołu sutkowego, często badania nie zawierają analiz przeżycia pooperacyjnego. W prowadzonych przeze mnie badaniach z wykorzystaniem spontanicznych guzów gruczołu sutkowego suk szczególną uwagę zwróciłam na ocenę całkowitego czasu przeżycia psów (ang. overall survival – OS) oraz występowania u nich przerzutów po dwóch latach od mastektomii.

Przyczyny powstawania nowotworów gruczołu sutkowego psów, pomimo znacznej liczby prac i analiz, jakie zostały przeprowadzone na świecie, nadal nie są dostatecznie jasne. Wiadomo, że etiopatogeneza jest złożona i jak dotąd nie sprecyzowano konkretnego czynnika przyczynowego. Badanie etiopatogenezy nowotworów gruczołu sutkowego u suk było tematem projektu badawczego (**Zał.3, II, I pkt.1**), w którego realizacji brałam udział jako wykonawca. Różne czynniki, zarówno hormonalne, genetyczne, enzymatyczne czy wzrostowe były brane pod uwagę jako przyczyny tej choroby. Wśród nich znaczącą rolę przypisuje się steroidowym hormonom płciowym takim jak estrogeny, progesteron. Obserwacje kliniczne wskazują, że na rozwój guzów gruczołu sutkowego u suk ma wpływ

czas wykonanej OVH. Uważa się, że wczesna OVH zmniejsza ryzyko wystąpienia nowotworów znosząc kancerogenne działanie hormonów płciowych (31, 41). Ocena ekspresji receptorów estrogenowych (ER) i progesteronowych (PR) w rakach sutka u ludzi stanowi ważny czynnik prognostyczny i predykcyjny – obniżona ekspresja lub jej brak związana jest z krótszym czasem przeżycia oraz negatywną odpowiedzią na terapię hormonalną. Pomimo licznych badań na temat znaczenia tych receptorów w nowotworach gruczołu sutkowego suk zdania są podzielone i niejednoznaczne (18, 27, 42). W zapoczątkowaniu rozwoju nowotworów (tzw. inicjacja procesu karcynogenezy) gruczołu sutkowego biorą udział również czynniki genetyczne, w tym geny (i ich produkty białkowe) kontrolujące proces apoptozy. Apoptoza to zaprogramowana genetycznie śmierć komórki (ang. programmed cell death – PCD), której celem jest utrzymanie homeostazy organizmu na poziomie komórkowym – umożliwia kontrolę liczby i rodzaju komórek w warunkach fizjologicznych i patologicznych. Zaburzenia procesu apoptozy, tj. nadmierna lub mało efektywna apoptoza, towarzyszy wielu chorobom, w tym nowotworom u ludzi i zwierząt, stąd też budzi ona od lat duże zainteresowanie badaczy z różnych dziedzin nauk medycznych. Kluczową rolę w regulacji apoptozy odgrywają białka z rodziny Bcl-2: antyapoptotyczne (głównie Bcl-2) oraz proapoptotyczne (głównie Bax), jak również kaspaza-3 (CC3, czyli kluczowa kaspaza efektorowa dla indukcji apoptozy) oraz białko p53 (produkt genu supresorowego *p53*, tzw. „strażnik genomu”, główny regulator cyklu komórkowego, który inicjuje apoptozę komórek z uszkodzonym DNA). Mutacja w obrębie genu *p53* odgrywa kluczową rolę w powstawianiu i rozwoju wielu nowotworów psów, w tym również w obrębie gruczołu sutkowego. Ponadto stwierdzono zależność pomiędzy występowaniem mutacji genu *p53* a obecnością nieprawidłowej formy białka p53 w jądrach komórek nowotworowych gruczołu sutkowego suk wykazaną badaniem immunohistochemicznym. W dostępnym piśmiennictwie weterynaryjnym badania sugerują korelację pomiędzy nadekspresją białka p53 identyfikowaną metodą immunohistochemiczną a wysokim stopniem złośliwości raków gruczołu sutkowego oraz gorszym rokowaniem (18, 20, 22). Ponadto gen *p53* jest molekularnym mediatorem odpowiedzi na chemioterapię, tj. może wpływać na wrażliwość guzów. We wcześniejszych badaniach własnych nadekspresję białka p53 i Bax wykazywano rakach o wysokim stopniu złośliwości histologicznej, czemu towarzyszyła zwiększona ekspresja IGF-IR (receptora dla insulinopodobnego czynnika wzrostu typu I) (7). Mimo, że prace nad apoptozą prowadzone były w ramach pracy doktorskiej, to jednak nie badano wpływu tego procesu na stopień zaawansowania klinicznego w momencie rozpoznania choroby nowotworowej u pacjenta, jak również na rokowanie i wystąpienie przerzutów.

W jednych badaniach wykazano, że ekspresja Bcl-2 jest wyższa w nowotworach niezłośliwych (42). Z kolei Yildirim i wsp. (44) w badaniach obejmujących 27 guzów sutka suk obserwowali wysoką ekspresję Bcl-2 oraz Bax w nowotworach złośliwych. Kumaraguruparan i wsp. (17) badając białka szoku cieplnego (ang. heat shock proteins – HSPs) przy zastosowaniu metody Western blot w guzach sutka psów i ludzi wykazali, że zmniejszona ekspresja kaspazy-3 a jednocześnie nadekspresja HSPs i Bcl-2 umożliwia komórkom nowotworowych uniknięcie apoptozy, co zwiększa przeżywalność komórek, które mogą skutecznie kontynuować swój podział i rozprzestrzenianie się (tworzenie przerzutów). Proces apoptozy w nowotworach gruczołu sutkowego nadal jest słabo poznany, szczególnie pod względem znaczenia prognostycznego białek związanych z apoptozą oraz ich interakcji z czynnikami kliniczno-patologicznymi. Jak dotąd, w piśmiennictwie światowym tylko jedno opracowanie dotyczyło zagadnienia oceny wartości prognostycznej apoptozy w nowotworach gruczołu sutkowego suk (44). W związku z powyższym, postanowiłam zweryfikować przydatność wybranych markerów apoptozy.

Dużą uwagę zwróciłam na ocenę przydatności badania cytologicznego (cytologia, cytopatologia, CP) w diagnostyce nowotworów zwierząt. Pomimo priorytetu badania histopatologicznego (histopatologia, HP), które jest niekwestionowanym standardem w postępowaniu z materiałem pooperacyjnym, to badanie cytologiczne jest obecnie podstawową metodą w diagnostyce przedoperacyjnej, która dostarcza niezwykle ważnych informacji dotyczących charakteru biologicznego zmiany, ale również odnośnie rokowania dla pacjenta. Badanie cytologiczne jest stosunkowo łatwą, tanią, mało inwazyjną metodą do wykonania w każdym gabinecie weterynaryjnym, pozwalającą na szybką i wstępną ocenę zmian w tym nowotworów. Jak dotąd w piśmiennictwie weterynaryjnym jest niewiele danych dotyczących wykorzystania badania cytopatologicznego i cytomorfometrycznego w diagnostyce nowotworów gruczołu sutkowego suk (3, 38, 45), w przeciwieństwie do licznych badań dotyczących raka piersi u kobiet (25, 29).

W preparatach histopatologicznych do oceny stopnia histologicznej złośliwości (ang. histologic tumor grade) stosowana jest trójstopniowa skala Blooma-Richardsona w modyfikacji Nottingham (inaczej zwana Elston-Ellis) dla raka piersi u kobiet, która została zaadaptowana do nowotworów złośliwych pochodzenia nabłonkowego gruczołu sutkowego suk (8, 9). Dane literaturowe oraz wyniki własne wskazują, że stopień złośliwości raków gruczołu sutkowego suk uzyskany podczas badania histopatologicznego ma znaczenie prognostyczne (5, 15, 30).

Z kolei w ocenie stopnia złośliwości cytologicznej stosuje się klasyfikację cytologiczną, opracowaną po raz pierwszy przez zespół Robinsona w 1994 r. (37) dla najczęściej spotykanego raka piersi, tj. raka przewodowego inwazyjnego o niespecyficznym utkaniu, bez specjalnego typu (ang. invasive ductal carcinoma – IDC, no otherwise specified – NOS, no special type – NST). U kobiet wykazano, że system Robinsona dobrze koresponduje z oceną stopnia histologicznej złośliwości i jest uważany za przydatne przedoperacyjne narzędzie diagnostyczne, które dostarcza cennych informacji, i co istotne, pomaga w wyborze pacjentów do chemioterapii neoadiuwantowej jako podstawowe leczenie HBC (28, 37). Brak danych dotyczących oceny stopnia cytologicznej złośliwości nowotworów gruczołu sutkowego suk, także jej znaczenia w aspekcie prognostycznym (po 2-letnim okresie obserwacji), w korelacji z parametrami cytomorfometrycznymi oraz czynnikami kliniczno-patologicznymi skłoniło mnie do podjęcia badań w tym kierunku.

Guzy gruczołu sutkowego psów charakteryzuje niejednorodna morfologia ze względu na różne pochodzenie histogenetyczne, obecność tkanki chrzęstnej, kostnej, co przysparza trudności diagnostycznych. Ta heterogenna grupa nowotworów stała się od końca XIX wieku przedmiotem dyskusji patologów weterynaryjnych, jak również była przyczyną stosowania niejednorodnej nomenklatury, stworzenia różnych teorii histogenezy oraz wyodrębnienia różnych klasyfikacji histopatologicznych, np. klasyfikacja zaproponowana w 1974 przez Hampe i Misdorp „Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and Cat” (opublikowana przez WHO), która przeszła modyfikację w 1999 r. (12). Najnowsza klasyfikacja opublikowana przez Goldschmidt i wsp. w 2011 r. (9) wprowadziła kilka istotnych zmian w porównaniu do klasyfikacji z 1999 r., między innymi dodała 5 nowych podtypów histologicznych. Na doskonalenie klasyfikacji guzów gruczołu sutkowego psów bez wątplenia wywarł dynamiczny postęp wiedzy na temat biologii i przyczyn powstawania nowotworów oraz związany z tym rozwój metod immunohistochemicznych. Wprowadzenie immunohistochemii pozwoliło na badania w aspekcie histogenezy nowotworów, ich sklasyfikowanie do poszczególnych typów histologicznych, jak również określenie markerów nowotworowych umożliwiających dokładniejszą ocenę rokowania przebiegu choroby oraz ocenę prawdopodobieństwa wystąpienia odpowiedzi na poszczególne schematy terapii przeciwnowotworowej (np. hormonoterapii) (4). Czynniki epidemiologiczne, kliniczne oraz immunohistochemiczne i ich znaczenie prognostyczne w odniesieniu do guzów gruczołu sutkowego suk zostały bardziej szczegółowo przedstawione przeze mnie w publikacji przeglądowej pt. **Badanie histopatologiczne w onkologii weterynaryjnej. Część IV. Nowotwory gruczołu sutkowego u suk. Życie Weterynaryjne. 2018, 93, 247-255 (4.1.2.,**

publikacja 4.) Ze zrozumiałych względów (m.in. częste występowanie) znacznie więcej badań dotyczących oceny immunohistochemicznej prowadzono na rakach gruczołu sutkowego, natomiast danych dotyczących nowotworów złośliwych pochodzenia mezenchymalnego – mięsaków, nie było w Polsce, a w skali światowej było ich bardzo niewiele (zwykle jako pojedyncze doniesienia), dlatego w swojej pracy naukowej podjęłam badania, które miały na celu scharakteryzować tę grupę nowotworów.

Badania prowadzone w ramach osiągnięcia naukowego skupiają się na ocenie przydatności diagnostycznej i prognostycznej wybranych markerów guzów gruczołu sutkowego suk oznaczanych w badaniu immunohistochemicznym oraz cytologicznym. Większość uzyskanych wyników trudno odnieść do prac innych autorów z uwagi na brak danych odnośnie nowotworów gruczołu sutkowego suk, stąd też najbardziej celowe w takich przypadkach wydaje się odnoszenie wyników do raka piersi u kobiet.

Głównymi celami prowadzonych przeze mnie badań było:

1. ocena występowania mięsaków gruczołu sutkowego suk oraz ocena immunohistochemiczna wybranych markerów dla tych nowotworów,
2. ocena zależności pomiędzy wybranymi białkami związanymi z apoptozą (Bcl-2, Bax, CC3, p53) w nowotworach gruczołu sutkowego suk oraz potencjalnych korelacji z wybranymi czynnikami kliniczno-patologicznymi, czasem przeżycia pooperacyjnego oraz występowaniem przerzutów,
3. ocena przydatności diagnostycznej i prognostycznej badania cytologicznego guzów gruczołu sutkowego suk,
4. ocena przydatności systemu Robinsona do oceny stopnia cytologicznej złośliwości nowotworów gruczołu sutkowego suk oraz znaczenie prognostyczne systemu Robinsona,
5. ocena związku parametrów cytologicznych i cytomorfometrycznych z zachowaniem biologicznym guza, stopniem złośliwości histologicznej i cytologicznej (Robinsona).

4.2.2. Syntetyczne omówienie publikacji stanowiących osiągnięcie badawcze

Ocena występowania mięsaków gruczołu sutkowego suk oraz ocena immunohistochemiczna wybranych markerów dla tych nowotworów

Mięsaki gruczołu sutkowego suk (ang. canine mammary sarcomas – CMSs) to rzadko spotykane nowotwory gruczołu sutkowego, jednakże ta grupa nowotworów jest częściej obserwowana u psów niż u kobiet (9, 24, 36). Chociaż były już opisane w klasyfikacji nowotworów gruczołu sutkowego suk z 1974 r. (12), to jak dotąd nie zostały w pełni poznane.

Wiadomym jednak jest, że niekorzystnie rokują i pozostają istotnym problemem diagnostycznym (różnicowanie guzów wrzecionowatokomórkowych gruczołu sutkowego). W toku przeprowadzonych przeze mnie badań, mających na celu ocenę immunohistochemiczną wybranych markerów w mięsakach w pierwszym etapie przeprowadziłam retrospektywną ocenę występowania tej grupy nowotworów u suk na podstawie archiwalnej dokumentacji Zakładu Patomorfologii Zwierząt, Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. Następnie przeprowadziłam ocenę histologiczną typu mięsaka oraz ocenę stopnia złośliwości histologicznej (według systemu oceny dla mięsaków tkanek miękkich u ludzi). Kolejnym etapem badań była ocena ekspresji markerów wykorzystywanych do celów diagnostycznych (CK, Vim, α -SMA, Des, p63) oraz markerów wykorzystywanych do celów prognostycznych (Ki67, p53, ER α , PR). Wyniki badań przedstawiono w publikacji **Dolka I., Sapieryński R., Król M.: Retrospective study and immunohistochemical analysis of canine mammary sarcomas. BMC Veterinary Research. 2013, 9:248. (4.1.1., publikacja 1)**

Przedstawione badania wykazały, że mięsaki gruczołu sutkowego suk stanowią niewielki odsetek (4%) wszystkich guzów tej lokalizacji oraz stanowią 5.1% nowotworów złośliwych gruczołu sutkowego u tego gatunku zwierząt. Mięsaki występowały znacznie rzadziej w porównaniu do raków – w proporcji 1:18. Średnia wieku psa wynosiła 11.1 ± 2.8 lat (zakres 5–17 lat), najczęściej występowały u psów ras dużych (owczarek niemiecki, rottweiler, bernardyn, tosa inu). Średnia wielkość guza wynosiła 8.8 ± 6.1 cm (zakres 2–20 cm). Wyniki badań pokazały, że mięsaki sutka stanowią zróżnicowaną grupę nowotworów o wysokim stopniu złośliwości histologicznej – najczęściej występowały włókniakomięsaki, następnie kostniakomięsaki, tłuszczakomięsaki, chrzęstniakomięsaki, naczyńniakomięsaki oraz niesklasyfikowane mięsaki.

Pochodzenie elementów mezenchymalnych, szczególnie tkanki kostnej i chrzęstnej w obrębie gruczołu sutkowego psa, było przedmiotem dyskusji od wielu lat. W ocenie histogenezy oraz w diagnostyce pomocna okazała się immunohistochemiczna charakterystyka filamentów pośrednich cytoszkieletu komórek nowotworowych – cytokeratyny (CK) obecne w komórkach nabłonkowych oraz filamentów komórek wywodzących się z mezenchymy – wimentyna (Vim), aktyna mięśni gładkich (α -SMA) oraz desmina (Des). W omawianej pracy wykazano mezenchymalny charakter (fenotyp) badanej grupy guzów gruczołu sutkowego, potwierdzając rozpoznanie mięsaka – w komórkach nowotworowych nie stwierdzono ekspresji CK oraz p63, z kolei ekspresja Vim była najsilniejsza i stwierdzana we wszystkich przypadkach, natomiast ekspresję α -SMA oraz Des odnotowywano w nielicznych

przypadkach. Po raz pierwszy wykazano, że ekspresja Vim była istotnie większa w kostniakomięsakach i włókniakomięsakach niż w tłuszczakomięsakach i innych mięsakach sutka. Ponadto, szczególnie ważne okazało się białko p63, jako istotny marker komórek mioepitelialnych, dzięki któremu można było potwierdzić lub wykluczyć „mioepitelialną histogenezę” guzów sutka. Uzyskane wyniki potwierdziły, iż mięsaki sutka suk nie wykazują mioepitelialnego fenotypu oraz nie powstają na drodze tak zwanego przejścia epitelialno-mezenchymalnego (ang. epithelial-mesenchymal transition – EMT). Ocena ekspresji receptorów o znaczeniu prognostycznym i predykcyjnym w nowotworach gruczołu sutkowego jest ważna z poznawczego i praktycznego punktu widzenia. Niestety brakowało danych na ten temat w odniesieniu do mięsaków gruczołu sutkowego suk. W omawianej pracy wykazaliśmy dodatnią korelację zwiększonej ekspresji Ki67 ze wzrostem stopnia złośliwości (niskim stopniem zróżnicowania histologicznego). Stwierdzono ekspresję białka p53 we wszystkich typach histologicznych mięsaków, w większości przypadków w guzach o wysokim stopniu złośliwości. O ile w mięsakach sutka odnotowano tylko niski poziom ekspresji PR to różnice między typami histologicznymi nie były istotne. Ponadto typ histologiczny mięsaka nie wpływał na potencjał proliferacyjny badanych guzów. Ocena Ki67 okazała się pomocna w określeniu stopnia zróżnicowania histologicznego mięsaków i można sądzić, że może mieć znaczenie prognostyczne. Opierając się na wynikach prezentowanych badań mięsaki gruczołu sutkowego suk są guzami hormonalnie niezależnymi, co może wiązać się z gorszym rokowaniem dla pacjentów oraz powodować, że terapia hormonalna okaże się nieskuteczna. Wstępne wyniki badań były prezentowane również jako doniesienie konferencyjne (poster) **Dolka I.**, Sapieryński R., Król M.: Histopathological and immunohistochemical study of canine mammary sarcomas. The 30th Meeting of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP), Annual Meeting of the European College of Veterinary Pathologist (ECVP) and the 24th Annual Meeting of the Spanish Society of Veterinary Pathology. 05-08.09.2012, León, Hiszpania.

**Ocena zależności pomiędzy białkami związanymi z apoptozą (Bcl-2, Bax, CC3, p53)
w nowotworach gruczołu sutkowego suk oraz ich potencjalnych korelacji z wybranymi
czynnikami kliniczno-patologicznymi, czasem przeżycia pooperacyjnego
oraz występowaniem przerzutów**

Poznanie mechanizmów apoptozy w powstawaniu nowotworów gruczołu sutkowego budzi nadzieję na poprawę oceny rokowania klinicznego oraz opracowanie nowych, skutecznych terapii przeciwnowotworowych w przyszłości, stąd też białka związane

z apoptozą Bcl-2, Bax, CC3, oraz p53 stanowią istotne markery do oceny tego procesu. Podczas realizacji badań mających na celu ustalenie zależności pomiędzy białkami związanymi z apoptozą oraz ich potencjalnych korelacji z wybranymi markerami, zbierałam informacje kliniczne (wiek psa w momencie rozpoznania guza sutka, rasa, masa ciała psa, status reprodukcyjny, czas wykonanej OVH, wielkość guza, obecność owrzodzenia powierzchni guza, stopień zaawansowania klinicznego – TNM), a następnie po upływie dwóch lat po leczeniu chirurgicznym (mastektomia) zbierałam dane dotyczące stanu zdrowia psa, czasu przeżycia, przyczyny śmierci, wykrycia przerzutów choroby oraz wznowy nowotworowej. Dodatkowo, analiza danych została przeprowadzona w dwóch grupach psów: 1) o krótkim czasie całkowitego przeżycia pooperacyjnego (≤ 18 miesięcy) oraz 2) o długim czasie całkowitego przeżycia pooperacyjnego (> 18 mies.). Pierwszy etap badań obejmował ocenę histopatologiczną guza sutka i stopnia histologicznej złośliwości według najnowszej klasyfikacji (9), ocenę indeksu mitotycznego (ang. mitotic index – MI), ocenę występowania martwicy oraz rodzaj wzrostu guza. W dalszym etapie metodą immunohistochemiczną oznaczano ekspresję badanych markerów: białek Bcl-2, Bax, CC3, p53, antygenu jądrowego Ki67 (marker proliferacyjny), receptora estrogenowego alfa (ER α) oraz receptora progesteronowego (PR). Najważniejsze wyniki przeprowadzonych analiz zostały zaprezentowane w publikacji **Dolka I., Król M., Sapierzyński R.: Evaluation of apoptosis-associated protein (Bcl-2, Bax, cleaved caspase-3 and p53) expression in canine mammary tumors: An immunohistochemical and prognostic study. Research in Veterinary Science. 2016, 105, 124–133. (4.1.1., publikacja 2)**

Badane nowotwory gruczołu sutkowego pochodziły od suk w wieku od 5 do 14 lat (średnia 9.9 ± 2.5 lata), najczęściej od psów rasowych, głównie małych ras (jamnik). U większości suk owariohisterektomia była wykonana w trakcie tej samej operacji co mastektomia. Średnia wielkość guza wynosiła 2.6 ± 1.5 cm (zakres od 0.5 do 5 cm). Nowotwory najczęściej rozwijały się w 4 i 5 gruczole sutkowym, głównie po stronie lewej.

W analizowanym materiale 77% (n=31) nowotworów stanowiły guzy złośliwe, najczęściej były to raki proste (simple carcinoma), typ cewkowo-brodawkowaty (tubulopapillary), następnie raki powstające w guzie niezłośliwym (carcinoma arising in a benign tumor) oraz raki złożone (complex carcinoma). Po upływie co najmniej 2 lat po mastektomii 10 psów (25%) nie żyło. Przyczyną śmierci 6 psów był zaawansowany nowotwór gruczołu sutkowego (przerzut nowotworowy, wznowa raka inwazyjnego).

W oparciu o badania raka piersi u kobiet dominuje pogląd, że większa ekspresja Bcl-2 wpływa na lepsze rokowanie (13, 19). Z kolei zmniejszeniu ekspresji Bcl-2 podczas

transformacji nowotworowej mogą towarzyszyć dodatkowe zmiany genetyczne, co prowadzi do dalszej progresji nowotworu (23). Podobne wnioski w odniesieniu do guzów gruczołu sutkowego suk wyciągnęli Yang i wsp. (42), jednakże bez analizy przeżycia, oceny występowania przerzutów i wznowy nowotworowej. Badania własne wykazały, że zwiększona ekspresja Bcl-2 w nowotworach gruczołu sutkowego była istotnie związana z korzystnymi parametrami prognostycznymi, takimi jak brak przerzutów oraz wczesne stadium choroby wg TNM. Chociaż większa ekspresja Bcl-2 była często stwierdzana w nowotworach niezłośliwych, w nowotworach złośliwych o I i II stopniu złośliwości, w rakach złożonych, rakach powstających z guza niezłośliwego oraz w nowotworach bez martwicy, a więc w guzach, które lepiej rokują, to nie stwierdzono statystycznie istotnych korelacji. Jednocześnie nadekspresja Bcl-2 nie wpływała w istotny sposób na OS, pomimo, że była odnotowywana częściej w grupie psów o dłuższym czasie przeżycia pooperacyjnego. W badaniach własnych, podobnie jak w badaniach Yang i wsp. (42) wykazano większą ekspresję Bcl-2 w nowotworach estrogenozależnych gruczołu sutkowego, chociaż wynik okazał się nieistotny statystycznie w obu pracach. Wynik ten był szczególnie ważny, gdyż podobne obserwacje stwierdzano w rakach piersi u kobiet, gdzie wykazano, że raki ER(+)Bcl-2(+) mają większe prawdopodobieństwo odpowiedzi na uzupełniające leczenie tamoksifenem (niesteroidowym lekiem antyestrogenowym, antagonistą receptora estrogenowego) oraz lepiej rokują (13, 19). Jednakże, co należy podkreślić, jak dotąd nadal panuje rozbieżność w ocenie znaczenia prognostycznego Bcl-2 w medycynie ludzkiej.

Ponadto w swoich badaniach po raz pierwszy podjęłam próbę oceny interakcji między białkiem Bcl-2 a receptorem progesteronowym w nowotworach gruczołu sutkowego suk. Wykazałam, że taka zależność nie istnieje, jak również nie wpływa na rokowanie. Jest to stosunkowo nowa obserwacja, i jak do tej pory była badana w raku piersi kobiet (19, 23).

Zgodnie z moją wiedzą, po raz pierwszy została stwierdzona dodatnia korelacja między ekspresją Bcl-2 i CC3 w nowotworach gruczołu sutkowego u suk (w grupie psów o krótszym czasie przeżycia). Taka korelacja była wykazana w raku piersi jako „paradoksalne działanie Bcl-2”, tj. odpowiedź „proapoptotyczna” Bcl-2 modulowana przez CC3 (10). Zwiększona aktywność proapoptotyczna może sugerować większą wrażliwość komórek nowotworowych na chemio- i radioterapię.

W rakach piersi u kobiet zmniejszona ekspresja Bax była związana z gorszą reakcją na chemioterapię i krótszym czasem przeżycia u pacjentek z przerzutem nowotworowym (16), jednak znaczenie prognostyczne Bax pozostaje nadal dyskusyjne. W badaniach własnych zwiększona ekspresja białek Bax, CC3 oraz p53 była częściej notowana w nowotworach

złośliwych gruczołu sutkowego suk, jednak nie wpływała w istotny sposób na całkowity czas przeżycia pooperacyjnego. Ponadto nadekspresja p53 była istotnie skorelowana z gorszym różnicowaniem nowotworów (wysokim stopniem histologicznej złośliwości), wyższym indeksem mitotycznym, inwazyjnym wzrostem guza, obecnością martwicy w obrębie nowotworu. Jednocześnie wykazano, że nadekspresja p53 występowała głównie w guzach u psów dużych ras (≥ 20 kg). Ta ważna obserwacja, sugeruje związek między występowaniem mutacji genu *p53* w populacjach bardziej homogennych genetycznie, co może być szczególnie ważne dla hodowców ze względu na potencjalnie ryzyko rozwoju choroby nowotworowej wśród danej grupy psów (predyspozycje rasowe, rodzinne). Natomiast ekspresja Bax i CC3 nie była istotnie związana z czynnikami kliniczno-patologicznymi. Większość naszych analiz dostarczyła pierwszych informacji o ekspresji Bax w nowotworach gruczołu sutkowego suk, a część wyników była zgodna z wcześniejszymi obserwacjami (2, 44). Ponadto, uzyskane wyniki, choć nieistotne statystycznie wykazały, że nadekspresja Bax występowała częściej w guzach z potencjałem metastatycznym, z kolei nadekspresja Bax oraz CC3 – w guzach psów, które nie przeżyły (70%) a przyczyną śmierci był guz sutka (w 50% przypadków). W kilku przypadkach wykryliśmy dodatnią jądrową reakcję barwną w badaniu immunohistochemicznym z przeciwciałem CC3 i Bax, co potwierdziło wcześniejsze obserwacje (7, 14, 40). W omawianej pracy stwierdzono dodatnią korelację między ekspresją CC3 oraz MI w grupie guzów pochodzących od psów o krótszym czasie przeżycia (≤ 18 miesięcy). Ponadto większość guzów sutka o średnim i wysokim MI wykazywało ekspresję CC3. W tej grupie psów, wykazano również korelację pomiędzy p53 i ER α , co potwierdza istotną rolę p53 jako czynnika transkrypcyjnego, który reguluje ER α . Ponadto swoisty „cross-talk” pomiędzy szlakami p53 oraz ER α może dostarczyć ważnych wskazówek na opracowanie i wdrożenie skutecznych strategii zwalczania raka. Z kolei w grupie guzów pochodzących od psów o dłuższym czasie przeżycia (> 18 miesięcy) wykazano dodatnią korelację pomiędzy ekspresją p53 a MI oraz ujemną korelację pomiędzy ekspresją CC3 i ER α . Odkrycie to potwierdza występowanie podwójnego sposobu działania estrogenu, który oprócz stymulacji proliferacji komórek przeciwdziała apoptozie, ponadto opierając się na danych z piśmiennictwa, można przypuszczać, że określenie profilu ekspresji CC3 i ER α w guzach może mieć znaczenie kliniczne, tj. wpływ na decyzje terapeutyczne (21).

Dodatkowo w omawianej pracy w analizie jednoczynnikowej zostały wykazane istotnie statystycznie zależności pomiędzy parametrami kliniczno-patologicznymi, takimi jak wielkość guza, MI, rodzaj wzrostu guza, stopień zaawansowania nowotworu, występowaniem przerzutów a OS. Warto podkreślić, że z przeprowadzonych przeze mnie badań wynika,

że guzy o średnicy powyżej 3 cm, z umiarkowanym indeksem mitotycznym (1.0–1.9/HPF), wzrostem naciekającym korelowały z krótszym czasem całkowitego przeżycia, podobnie jak fakt występowania przerzutu oraz zaawansowany stopień choroby. W kolejnym etapie przeprowadzono analizę wieloczynnikową, która wykazała, że wiek psów (> 8 lat) w dniu rozpoznania guza sutka był niezależnym, niekorzystnym czynnikiem prognostycznym.

Nasze badania nie potwierdziły przydatności białek związanych z apoptozą jako istotnych markerów prognostycznych w nowotworach gruczołu sutkowego. Uzyskane wyniki pokazały, że w nowotworach gruczołu sutkowego suk występują różne molekularne mechanizmy (szlaki przekazywania sygnałów) zaangażowane w proces apoptozy, które mogą wpływać na jej indukcję bądź hamowanie u konkretnej grupy pacjentów. Można mieć nadzieję, że na podstawie uzyskanych informacji w przyszłości będzie można dobrać najbardziej odpowiednie leczenie, które będzie skierowane na zaburzenia mechanizmów molekularnych w guzie nowotworowym u konkretnego pacjenta dając najlepsze efekty leczenia.

W kolejnej pracy **Dolka I., Czopowicz M., Gruk-Jurka A., Wojtkowska A., Sapieryński R., Jurka P. Diagnostic efficacy of smear cytology and Robinson's cytological grading of canine mammary tumors with respect to histopathology, cytomorphometry, metastases and overall survival. PLoS One. 2018, 13(1):e0191595. (4.1.1., publikacja 3)** podjęłam się ocenie przydatności diagnostycznej i prognostycznej badania cytologicznego guzów gruczołu sutkowego suk. Do badania wykorzystano 73 guzy gruczołu sutkowego, z których pobierano materiał drogą biopsji cienkoigłowej do badania cytologicznego, a po utrwaleniu w formalinie, pobierano wycinki (z tych samych guzów) do badania histopatologicznego. Ponadto zbierałam dane kliniczne, patomorfologiczne oraz informacje o przeżywalności i przerzutach podczas obserwacji odległej (tj. 2-letniej od momentu wykonanej mastektomii). Średnia wieku suk, od których pochodziły guzy wynosiła 10 lat (± 2.4 lat) i były to głównie psy małych ras (jamniki i yorkshire teriery), poddane owariohisterektomii i mastektomii w tym samym czasie (79%). Największe guzy były zlokalizowane w 3-5 pakiecie po lewej stronie. Duże prawdopodobieństwo rozpoznania nowotworu złośliwego dotyczyło guzów o średnicy ≥ 3 cm. Według danych zebranych po upływie co najmniej dwóch lat od mastektomii nie żyło 26 (44.1%) psów. U 14 (53.8%) suk przyczyną śmierci był nowotwór złośliwy gruczołu sutkowego.

**Ocena przydatności diagnostycznej i prognostycznej badania cytologicznego
guzów gruczołu sutkowego suk**

W prezentowanej pracy 86.3% wyników przedoperacyjnego badania CP było zgodnych z badaniem pooperacyjnym HP w różnicowaniu charakteru biologicznego guzów sutka (zmian złośliwych i niezłośliwych). Poziom zgodności wyznaczony współczynnikiem kappa wynosił 58.5%. Okazało się, że badanie cytologiczne charakteryzuje wysoka czułość w diagnostyce nowotworów złośliwych wynikająca z małej liczby wyników fałszywie ujemnych. Ponadto otrzymano dobry poziom zgodności (współczynnik kappa, 65.9%) w rozpoznaniu typu histologicznego guza gruczołu sutkowego. Zgodność badania cytologicznego z otrzymanym wynikiem histopatologicznym była częściej spotykana u suk z rakiem prostym (simple carcinoma) niż u suk z rakiem złożonym (complex carcinoma), rakiem powstającym w niezłośliwym guzie mieszanym (carcinoma arising in benign mixed tumor) czy innych, jak złośliwy guz mieszany (carcinosarcoma), włókniakomięsak (fibrosarcoma). Według mojej najlepszej wiedzy, przedstawiona analiza zgodności typu histopatologicznego (wg najnowszej klasyfikacji, 9) jest pierwsza na świecie. Trudności w ocenie cytologicznej jakie się pojawiają wynikają z różnorodności morfologicznej guzów sutka u suk, występowanie więcej niż jednego typu komórek (np. komórki mioepitelialne), nieregularne rozmieszczenie zmian w obrębie guza (np. obecność martwicy).

Uzyskane wyniki wykazały, że badanie cytologiczne jest przydatne do określenia rokowania dla psa z nowotworem gruczołu sutkowego. Niewątpliwym sukcesem było wykazanie istotnych zależności pomiędzy krótszym czasem przeżycia a rozpoznaniem nowotworu złośliwego oraz raka prostego z wykorzystaniem badania cytologicznego. Ponadto wyniki prezentowanych badań pozwoliły stwierdzić, że rozpoznanie cytologiczne raka prostego oraz liczne kruszywo komórkowe (ang. necrotic cellular debris) w rozmazach cytologicznych wiązało się z występowaniem u tych pacjentów przerzutów po 2-letnim okresie obserwacji. Jednocześnie wyniki potwierdziły zgodność CP z HP (złoty standard), na podstawie której rozpoznanie nowotworu złośliwego, raka prostego oraz wykrycie pól martwicy stanowi negatywny czynnik prognostyczny. Co ciekawe, opierając się na danych odnośnie raka piersi u kobiet, można przypuszczać, że ocena martwicy może być pomocna jako jedno z kryteriów oceny złośliwości cytologicznej (39). Natomiast w badaniach własnych nie stwierdzono, aby komórkowość oraz parametry (elementy) tła oceniane w rozmazach cytologicznych miały znaczenie prognostyczne.

**Ocena przydatności systemu Robinsona do oceny stopnia cytologicznej złośliwości
nowotworów gruczołu sutkowego suk oraz znaczenie
prognostyczne systemu Robinsona**

Kolejne badania są pierwszą publikacją, w której opisano zastosowanie systemu (metody) Robinsona – stosowanego do oceny stopnia złośliwości cytologicznej raka piersi u kobiet – w określeniu stopnia złośliwości cytologicznej nowotworów gruczołu sutkowego u suk. W analizie 53 nowotworów złośliwych (zdiagnozowanych badaniem cytologicznym oraz histopatologicznym) pełna zgodność systemu Robinsona z ostateczną oceną stopnia złośliwości określonej badaniem histopatologicznym dotyczyła 83% przypadków. Największą zgodność uzyskano w rakach o 3 stopniu złośliwości (100%), o 2 stopniu (84.6%), a następnie o 1 stopniu złośliwości (66.7%). Niewątpliwym sukcesem było stwierdzenie dodatniej korelacji oraz dobrej zgodności (współczynnik kappa, 74.5%) metody Robinsona z badaniem histopatologicznym. Ocena stopnia złośliwości cytologicznej korelowała z histopatologiczną oceną złośliwości. Dodatkowo, dobra zgodność ocen została stwierdzona w 72.1% przypadków w analizie obejmującej nowotwory złośliwe rozpoznane za pomocą badania cytologicznego (n=61). Biorąc pod uwagę dane literaturowe (15), że raki o 2 i 3 stopniu złośliwości ocenione w badaniu HP gorzej rokują niż raki dobrze zróżnicowane (1 stopień), przeprowadzono odrębną analizę dla tych grup nowotworów ocenione w badaniu CP (2 i 3 vs 1 stopień) i również potwierdzono skuteczność systemu Robinsona. W omawianej pracy wyniki fałszywie dodatnie dotyczyły najczęściej 1 stopnia złośliwości. Główną przyczyną błędów w ocenie mogło być występowanie pleomorfizmu jądrowego w nowotworach niezłośliwych (co jest często spotykane w guzach sutka u suk), jak i w związku z towarzyszącym zapaleniem, ale również fakt oceniania różnych kryteriów w skali złośliwości cytologicznej oraz histopatologicznej. Ponadto należy zaznaczyć, że w naszej analizie uwzględniliśmy guzy złośliwe niezależnie od typu, podczas gdy w większości badań u kobiet stosowano system Robinsona dla jednego, najczęściej występującego typu raka piersi (37).

W badaniach przedstawionych w pracy po raz pierwszy oceniano znaczenie prognostyczne systemu Robinsona. Osiągnięciem godnym zwrócenia uwagi było wykazanie istotnych zależności pomiędzy czasem przeżycia psów po mastektomii, stadium TNM a oceną stopnia złośliwości cytologicznej (według systemu Robinsona). Okazało się, że cytologiczne rozpoznanie nowotworu złośliwego o 2 lub 3 stopniu złośliwości wiąże się w sposób statystycznie istotny ze złym rokowaniem – krótszym okresem przeżycia pooperacyjnego, wysokim ryzykiem śmierci z powodu guza sutka (ang. tumor-related cause of death)

oraz występowaniem przerzutów po 2-letnim okresie obserwacji. Warto podkreślić, że z przeprowadzonych przeze mnie badań wynika, że 2 lub 3 stopień złośliwości cytologicznej oraz zaawansowane stadium choroby nowotworowej (stadium 4) są niezależnymi, niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi w obserwacji odległej.

Ocena związku parametrów cytologicznych i cytomorfometrycznych z zachowaniem biologicznym guza, stopniem złośliwości histologicznej i cytologicznej (Robinsona)

W prezentowanych badaniach nad oceną parametrów cytologicznych i cytomorfometrycznych w diagnostyce cytologicznej guzów gruczołu sutkowego suk wykazano istotne statystycznie różnice w przypadku parametrów jądrowych (wielkość jądra komórkowego, wygląd jąderka komórkowego, brzeg jądra komórkowego oraz układ chromatyny), parametrów komórkowych (komórkowość, stopień dysocjacji komórek i pleomorfizm), jak również dla parametrów tła rozmazów cytologicznych (kruszywo komórkowe, występowanie granulocytów obojętnochłonnych oraz erytrocytów). Wysokie wartości tych parametrów były stwierdzane najczęściej w nowotworach złośliwych. Uzyskane wyniki pokazały, że badanie cytologiczne guzów gruczołu sutkowego suk w oparciu o analizowane parametry jest niewątpliwie przydatne w diagnostyce różnicującej guzy złośliwe od niezłośliwych, co jest ważne w codziennej praktyce lekarsko-weterynaryjnej. Z kolei tylko ocena występowania macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. extracellular matrix – ECM) oraz materiału śluzowo-wydzielniczego nie wykazała statystycznie istotnej różnicy. Brak tej istotności może potwierdzać opinię, że diagnostyka cytologiczna guzów złożonych/mieszanych przysparza trudności, które stanowią wyzwanie diagnostyczne (1, 43). Osiągnięciem godnym zwrócenia uwagi było wykazanie istotnej korelacji pomiędzy oceną stopnia złośliwości cytologicznej (tj. parametrami cytologicznymi uwzględnionymi w systemie Robinsona) a histopatologiczną oceną złośliwości. Ponadto wyniki badań wyraźnie wskazały istotne statystycznie korelacje pomiędzy elementami tła w rozmazach cytologicznych, jak: obecność kruszywa komórkowego, granulocytów obojętnochłonnych, erytrocytów (korelacje dodatnie) oraz ECM (korelacja ujemna) a stopniem złośliwości CP i HP. Komórkowość oraz materiał śluzowo-wydzielniczy nie były istotnymi czynnikami wpływającymi na ocenę złośliwości, co pozwoliło sądzić, że parametry te nie są cechami stałymi dla określonego stopnia zróżnicowania nowotworu. Co więcej, z przeprowadzonych przeze mnie badań wynika, że w ocenie złośliwości cytologicznej istotne znaczenie ma stopień dysocjacji komórek (ang. cell dissociation), który odzwierciedla formowanie cewek – jedno z kryteriów uwzględnianych w systemie stopniowania złośliwości histologicznej.

Dane literaturowe sugerują, że cytomorfometria wspomagana oprogramowaniem do komputerowej analizy obrazu mikroskopowego może być stosowana jako obiektywna metoda w przedoperacyjnej diagnostyce cytologicznej nowotworów (3). Pomimo wcześniejszych badań na temat oceny morfometrycznej jąder komórkowych w diagnostyce guzów gruczołu sutkowego u psów prezentowana praca jest pierwszą publikacją, w której podjęto próbę określenia, czy parametry cytomorfometryczne korelują ze stopniem złośliwości cytologicznej (38). Chociaż w naszym badaniu nowotwory złośliwe i nowotwory o 2 i 3 stopniu złośliwości (cytologicznej, jak i histologicznej) wykazywały wyższe wartości parametrów cytomorfometrycznych, takich jak: średnia powierzchnia komórki (ang. mean cellular area – MCA), średni obwód komórki (ang. mean cellular perimeter – MCP), średnia średnica komórki (ang. mean cellular diameter – MCD), średnia powierzchnia jądra komórkowego (ang. mean nuclear area – MNA), średni obwód jądra komórkowego (ang. mean nuclear perimeter – MNP), średnia średnica jądra komórkowego (ang. mean nuclear diameter – MND), krągłość jądra komórkowego (ang. nuclear roundness – NR), stosunek powierzchni zajmowanej przez jądro komórkowe do powierzchni komórki (ang. nuclear to cytoplasmic ratio N/C), to nie stwierdzono jednak istotnie statystycznych korelacji. Wstępne wyniki badań były prezentowane również jako doniesienie konferencyjne (poster) **Dolka I.**, Gruk-Jurka A., Sapieryński R., Jurka P., Łukasz D.: The value of cytologic examination of canine mammary tumors. The 2nd Joint European Congress of the ESVP, ECVP and ESTP, 27-30.08.2014, Berlin, Niemcy oraz **Dolka I.**, Gruk-Jurka A., Wojtkowska A., Miśkiewicz A., Jurka P., Sapieryński R.: Evaluation of canine mammary tumors using cytologic features, computerized cytomorphometry and immunocytochemistry. The 33rd Annual Meeting of the European Society of Veterinary Pathology & the 26th Annual Meeting of the European College of Veterinary Pathologists, 02-05.09.2015, Helsinki, Finlandia.

Podsumowanie

Przedstawione badania, w omawianych publikacjach stanowiących prezentowane osiągnięcie naukowe mające na celu ocenę przydatności diagnostycznej i prognostycznej wybranych markerów guzów gruczołu sutkowego suk w badaniu immunohistochemicznym oraz cytologicznym są istotne zarówno w aspekcie poznawczym jak i aplikacyjnym, szczególnie dla lekarzy weterynarii zajmujących się tą grupą pacjentów. Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że kompleksowa ocena wybranych parametrów z uwzględnieniem obserwacji odległej psów poddanych mastektomii dostarcza informacji

prognostycznych cennych z klinicznego punktu widzenia. Otrzymane wyniki wpisują się w postęp wiedzy z zakresu weterynaryjnej patologii klinicznej, ale również patologii porównawczej, bowiem mogą mieć odniesienie do raka piersi u kobiet. Niewykluczone, że zdobyta wiedza w przeprowadzonych badaniach zaowocuje w przyszłości nowymi strategiami leczenia przeciwnowotworowego – najbardziej efektywnej terapii celowanej, co byłoby z korzyścią zarówno dla onkologii weterynaryjnej, jak i ludzkiej. Jak dotąd, zgodnie z moją najlepszą wiedzą omówione badania dotyczące oceny immunohistochemicznej mięsaków gruczołu sutkowego suk, oceny cytologicznej złośliwości nowotworów gruczołu sutkowego suk i jej znaczenia prognostycznego są pierwszymi w Polsce oraz na świecie, z kolei badanie dotyczące oceny wartości prognostycznej białek związanych z procesem apoptozy jest jednym z nielicznych w skali światowej. Wiele wykonanych analiz, poruszanych kwestii zostało podjętych po raz pierwszy, o czym wspominam w omawianych publikacjach. Wskazane jest przeprowadzenie dalszych badań nad znaczeniem prognostycznym markerów nowotworowych guzów gruczołu sutkowego suk na szeroka skalę, obejmujących większą grupę zwierząt pochodzących z różnych obszarów Polski.

Wnioski

Wyniki badań przedstawionych w pracach stanowiących omawiane osiągnięcie naukowe pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. Mięsaki gruczołu sutkowego są rzadko spotykanymi nowotworami gruczołu sutkowego suk. Występują głównie u psów ras dużych w średnim wieku. Ocena immunohistochemiczna markerów dla filamentów pośrednich oraz komórek mioepitelialnych posiada wartość diagnostyczną i pozwala na ustalenie histogenezy guza. Ocena Ki67 w mięsakach gruczołu sutkowego suk koreluje ze stopniem złośliwości histologicznej, co może być wykorzystane do przewidywania rokowania. Mięsaki gruczołu sutkowego suk są nowotworami hormononiezależnymi, co jest uznawane za niekorzystny czynnik prognostyczny.

2. Ekspresja Bcl-2 w nowotworach gruczołu sutkowego suk jest związana z korzystnymi markerami prognostycznymi, jednak nie wpływa istotnie na całkowity czas przeżycia pooperacyjnego pacjentów. Zwiększona ekspresja **Bax**, **CC3** oraz **p53** jest charakterystyczna dla nowotworów złośliwych gruczołu sutkowego suk. Nadekspresja Bax występuje częściej w guzach dających przerzuty. Nadekspresja Bax oraz CC3 występuje częściej w guzach

psów, które nie przeżyły 2-letniej obserwacji, a przyczyną śmierci psa był nowotwór sutka. Zwiększona ekspresja p53 była istotnie skorelowana z niekorzystnymi markerami prognostycznymi i występowała najczęściej w guzach sutka psów ras dużych. Ekspresja Bax, CC3 oraz p53 wydaje się jednak nie mieć istotnego wpływu na całkowity czas przeżycia pooperacyjnego. Wykazane zależności („cross-talk”) pomiędzy białkami apoptotycznymi a wybranymi markerami w grupach guzów pochodzących od psów o krótszym (≤ 18 miesięcy) czasie przeżycia (Bcl-2 i CC3, CC3 i MI, p53 i ER α) lub o dłuższym (>18 miesięcy) czasie przeżycia pooperacyjnego (p53 i MI, CC3 i ER α) może dostarczyć wskazówek na opracowanie i wdrożenie skutecznych, celowanych terapii zwalczania nowotworów.

Markery takie jak większa średnica guza w momencie rozpoznania, wartość indeksu mitotycznego, naciekający rodzaj wzrostu guza, zaawansowane stadium kliniczne TNM (IV i V) oraz występowanie przerzutów są istotnie związane z krótszym całkowitym czasem przeżycia pooperacyjnego (wg analizy jednoczynnikowej). Niezależnym markerem prognostycznym ryzyka zgonu odległego (wg analizy wieloczynnikowej) jest starszy wiek psa w dniu rozpoznania u niego guza gruczołu sutkowego.

3. Badanie cytologiczne jest przydatne w diagnostyce guzów gruczołu sutkowego suk, chociaż większą trudność sprawiają guzy złożone i mieszane. Badanie cytologiczne jest przydatne do określenia rokowania dla psa z nowotworem gruczołu sutkowego.

4. System Robinsona jest przydatny do oceny stopnia złośliwości cytologicznej nowotworów gruczołu sutkowego suk oraz ma znaczenie prognostyczne. Zaawansowane stadium kliniczne (TNMIV) oraz 2 lub 3 stopień złośliwości cytologicznej są niezależnymi czynnikami ryzyka zgonu w obserwacji odległej chorych psów.

5. Parametry cytologiczne dotyczące jąder komórkowych (wielkość jądra komórkowego, wygląd jąderka komórkowego, brzeg jądra komórkowego oraz układ chromatyny), komórek (komórkowość, stopień dysocjacji komórek, pleomorfizm) oraz parametry tła rozmazów cytologicznych (kruszywo komórkowe, granulocyty obojętnochłonne oraz erytrocyty, z wyjątkiem ECM oraz materiał śluzowo-wydzielniczy) są przydatne w diagnostyce różnicującej guzy złośliwe od niezłośliwych. Parametry cytologiczne dotyczące jąder komórkowych, komórek (stopień dysocjacji komórek, pleomorfizm) oraz parametry tła rozmazów cytologicznych (obecność kruszywa komórkowego, granulocytów obojętnochłonnych, erytrocytów oraz ECM) mają znaczenie w ocenie stopnia złośliwości

cytologicznej. Nowotwory złośliwe i raki o 2 i 3 stopniu złośliwości (w ocenie cytologicznej jak i histologicznej) charakteryzowały wyższe wartości parametrów cytomorfometrycznych, jednakże cytomorfometria guzów gruczołu sutkowego suk nie wydaje się mieć istotnego znaczenia klinicznego.

Piśmiennictwo

- 1. Allen S.W., Prasse K.W., Mahaffey E.A.** Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors. *Vet Pathol.* 1986, 23, 649–655.
- 2. Bongiovanni L., Romanucci M., Malatesta D., D'Andrea A., Ciccarelli A., Della Salda L.** Survivin and related proteins in caninemammary tumors: immunohistochemical expression. *Vet Pathol.* 2015, 52, 269–275.
- 3. De Vico G., Sfacteria A., Maiolino P., Mazzullo G.** Comparison of nuclear morphometric parameters in cytologic smears and histologic sections of spontaneous canine tumors. *Vet Clin Pathol.* 2002, 31, 16–18.
- 4. Dolka I.** Immunohistochemia w diagnostyce weterynaryjnej – szerokie spektrum zastosowań. *Med Weter.* 2009, 65, 752–757.
- 5. Dolka I., Czopowicz M., Gruk-Jurka A., Wojtkowska A., Sapierzyński R., Jurka P.** Diagnostic efficacy of smear cytology and Robinson's cytological grading of canine mammary tumors with respect to histopathology, cytomorphometry, metastases and overall survival. *PLoS One.* 2018, 13(1):e0191595
- 6. Dolka I., Król M., Sapierzyński R.** Evaluation of apoptosis-associated protein (Bcl-2, Bax, cleaved caspase-3 and p53) expression in canine mammary tumors: An immunohistochemical and prognostic study. *Res Vet Sci.* 2016, 105, 124–133.
- 7. Dolka I., Motyl T., Malicka E., Sapierzyński R., Fabisiak M.** Relationship between receptors for insulin-like growth factor-I, steroid hormones and apoptosis associated proteins in canine mammary tumors. *Pol J Vet Sci.* 2011, 14, 245–251.
- 8. Elston C.W., Ellis I.O.** Pathological prognostic factors in breast cancer, I: the value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991, 19, 403–410.
- 9. Goldschmidt M., Peña L., Rasotto R., Zappulli V.** Classification and grading of canine mammary tumors. *Vet Pathol.* 2011, 48, 117–131.
- 10. Grigoriev M.Y., Pozharissky K.M., Hanson K.P., Imyanitov E.N., Zhivotovsky B.** Expression of caspase-3 and -7 does not correlate with the extent of apoptosis in primary breast carcinomas. *Cell Cycle.* 2002, 1, 337–342.
- 11. Gundim L.F., de Araújo C.P., Blanca W.T., Guimarães E.C., Medeiros A.A.** Clinical staging in bitches with mammary tumors: Influence of type and histological grade. *Can J Vet Res.* 2016, 80, 318–322.
- 12. Hampe J.F., Misdorp W.** Tumours and dysplasias of the mammary gland. *Bull. World Health Org.* 1974, 50, 111–133.
- 13. Hwang K.T., Woo J.W., Shin H.C., Kim H.S., Ahn S.K., Moon H.G., Han W., Park I.A., Noh D.Y.** Prognostic influence of BCL2 expression in breast cancer. *Int J Cancer.* 2012, 131, 1109–1119.
- 14. Kamada S., Kikkawa U., Tsujimoto Y., Hunter T.** Nuclear translocation of caspase-3 is dependent on its proteolytic activation and recognition of a substrate-like protein(s). *J Biol Chem.* 2005, 280, 857–860
- 15. Karayannopoulou M., Kaldrymidou E., Constantinidis T.C., Dessiris A.** Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: application of a human grading method. *J Comp Pathol.* 2005, 133, 246–252.
- 16. Krajewski S., Blomqvist C., Franssila K., Krajewska M., Wasenius V.M., Niskanen E., Nordling S., Reed J.C.** Reduced expression of proapoptotic gene Bax is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma. *Cancer Res.* 1995, 55, 4471–4478.

- 17. Kumaraguruparan R.**, Karunagaran D., Balachandran C., Manohar B.M., Nagini S. Of humans and canines: a comparative evaluation of heat shock and apoptosis-associated proteins in mammary tumors. *Clin Chimica Acta*. 2006a, 365,168–176.
- 18. Kumaraguruparan R.**, Prathiba D., Nagini S.: Of humans and canines: Immunohistochemical analysis of PCNA, Bcl-2, p53, cytokeratin and ER in mammary tumours. *Res Vet Sci*. 2006b, 81, 218–224.
- 19. Kymionis G.D.**, Dimitrakakis C.E., Konstadoulakis M.M., Arzimanoglou I., Leandros E., Chalkiadakis G., Keramopoulos A., Michalas S. Can expression of apoptosis genes, bcl-2 and bax, predict survival and responsiveness to chemotherapy in node-negative breast cancer patients? *J Surg. Res*. 2001, 99, 161–168.
- 20. Lee C.**, Kim W., Lim J., Kang M., Kim D., Kweon O.: Mutation and overexpression of p53 as a prognostic factor in canine mammary tumors. *J Vet Sci*. 2004, 5, 63–69.
- 21. Lewis-Wambi J.S.**, Jordan V.C. Estrogen regulation of apoptosis: how can one hormone stimulate and inhibit? *Breast Cancer Res*. 2009, 11, 206.
- 22. Łopuszyński W.**, Szczubiał M., Komsta R. Prognostic status of p53 protein accumulation in canine malignant mammary tumours. *Bull Vet Inst Pulawy* 2010, 54, 105–111.
- 23. Martínez-Arribas F.**, Alvarez T., Del Val G., Martín-Garabato E., Núñez-Villar M. J., Lucas R., Sánchez J., Tejerina A., Schneider J. Bcl-2 expression in breast cancer: a comparative study at the mRNA and protein level. *Anticancer Res*. 2007, 27, 219–222.
- 24. Misdorp W.**, Else R.W., Hellmén E., Lipscomb T.P. Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. *World Health Organization International Histological Classification of Tumours of Domestic Animals*. 1999, Second series, vol. VII. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology.
- 25. Mišković J.**, Zorić A., Radić Mišković H., Šoljić V. Diagnostic value of fine needle aspiration cytology for breast tumors. *Acta Clin Croat*. 2016, 55, 625–628.
- 26. Nguyen F.**, Pena L., Ibisch C., Loussouarn D., Gama A., Rieder N., Belusov A., Campone M., Abadie J. Canine invasive mammary carcinomas as model of human breast cancer. Part 1: natural history and prognostic factors. *Breast Cancer Res Treat*. 2018, 167, 635–648.
- 27. Nieto A.**, Peña L., Pérez-Alenza M.D., Sánchez M.A., Flores J.M., Castaño M. Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: clinical and pathologic associations and prognostic significance. *Vet Pathol*. 2000, 37, 239–247.
- 28. Pal S.**, Gupta M.L. Correlation between cytological and histological grading of breast cancer and its role in prognosis. *J Cytol*. 2016, 33, 182–186.
- 29. Park S.M.**, Lee D.W., Jin S.Y., Kim D.W., Jeon Y.M., Choi I.H. Fine-needle aspiration cytology as the first pathological diagnostic modality in breast lesions: A comparison with core needle biopsy. *Basic Appl Path*. 2010, 3, 1–6.
- 30. Peña L.**, De Andrés P.J., Clemente M., Cuesta P., Pérez-Alenza M.D. Prognostic value of histological grading in noninflammatory canine mammary carcinomas in a prospective study with two-year follow-up: relationship with clinical and histological characteristics. *Vet Pathol*. 2013, 50, 94–105.
- 31. Philibert J.C.**, Snyder P.W., Glickman N., Glickman L.T., Knapp D.W., Waters D.J.: Influence of host factors on survival in dogs with malignant mammary gland tumors. *J Vet Intern Med*. 2003, 17, 102–106.
- 32. Queiroga F.L.**, Raposo T., Carvalho M.I., Prada J., Pires I. Canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: most recent findings. *In Vivo*. 2011, 25, 455–465.
- 33. Ranieri G.**, Gadaleta C.D., Patruno R., Zizzo N., Daidone M.G., Hansson M.G., Paradiso A., Ribatti D. A model of study for human cancer: Spontaneous occurring tumors in dogs. Biological features and translation for new anticancer therapies. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013, 88, 187–197.
- 34. Raposo-Ferreira T.M.**, Bueno RC, Terra E.M., Avante M.L., Tinucci-Costa M., Carvalho M., Cassali .D., Linde S.D., Rogatto S.R., Laufer-Amorim R. Downregulation of ATM Gene and Protein Expression in Canine Mammary Tumors. *Vet Pathol*. 2016, 53,1154–1159.
- 35. Rasotto R.**, Berlato D., Goldschmidt M.H., Zappuli V. Prognostic significance of canine mammary tumor histologic subtypes: an observational study of 229 cases. *Vet Pathol*. 2017, 54, 571–578.

- 36. Rizzi A.**, Soregaroli A., Zambelli C., Zorzi F., Mutti S., Codignola C., Bertocchi P., Zaniboni A. Primary osteosarcoma of the breast: a case report. *Case Rep Oncol Med* 2013:858705.
- 37. Robinson I.A.**, McKee G., Nicholson A., D'Arcy J., Jackson P.A., Cook M.G., Kissin M.W. Prognostic value of cytological grading of fine-needle aspirates from breast carcinomas. *Lancet*. 1994, 343, 947–949.
- 38. Simeonov R., Simeonova G.** Computerized morphometry of mean nuclear diameter and nuclear roundness in canine mammary gland tumors on cytologic smears. *Vet Clin Pathol*. 2006, 35, 88–90.
- 39. Taniguchi E.**, Yang Q., Tang W., Nakamura Y., Shan L., Nakamura M. Sato M., Mori I., Sakurai T., Kakudo K. Cytologic grading of invasive breast carcinoma. Correlation with clinicopathologic variables and predictive value of nodal metastasis. *Acta Cytol*. 2000, 44, 587–91.
- 40. Vargas-Roig L.M.**, Cuello-Carrion F.D., Fernandez-Escobar N., Daguerra P., Leuzzi M., Ibarra J., Gago F.E., Nadin S.B., Ciocca D.R. Prognostic value of Bcl-2 in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracycline based chemotherapy. *Mol Oncol*. 2008, 2, 102–111.
- 41. Vascellari M.**, Capello K., Carminato A., Zanardello C., Baioni E., Mutinelli F. Incidence of mammary tumors in the canine population living in the Veneto region (Northeastern Italy): Risk factors and similarities to human breast cancer. *Prev Vet Med*. 2016, 1, 183–189.
- 42. Yang W.Y.**, Liu C.H., Chang C.J., Lee C.C., Chang K.J., Lin C.T. Proliferative activity, apoptosis, and expression of oestrogen receptors and Bcl-2 oncoprotein in canine mammary gland tumours. *J Comp Pathol*. 2006, 134, 74–83.
- 43. Yildirim F., Gurel A.** Comparison between cytological and histopathological evaluations of canine mammary tumours. *Rev Med Vet*. 2012, 163, 116–122.
- 44. Yildirim F.**, Sönmez K., Özyoğurtçu H., Şennazlı G., Gürel A., Gündüz M., Sontaş B.H. Evaluation of Bcl-2, Bcl-XL and Bax expression and apoptotic index in canine mammary tumours. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2014, 20, 513–520.
- 45. Zuccari D.A.**, Santana A.E., Rocha N.S. Fine needle aspiration cytologic and histologic correlation in canine mammary tumors. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2001, 38, 38–41.

5. Pozostałe osiągnięcia naukowo – badawcze

5.1 Osiągnięcia naukowo – badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora

Po ukończeniu studiów na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie w marcu 2006, już w maju tego samego roku rozpoczęłam pracę naukową w ramach stacjonarnych studiów doktoranckich pt. „Biologiczne podstawy regulacji wzrostu zwierząt i utrzymania ich zdrowia” pod kierownictwem prof. dr hab. Tomasza Motyla na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. Pracę doktorską pt. „Ekspresja receptorów dla hormonów steroidowych oraz białek pro- i antyapoptotycznych w nowotworach gruczołu sutkowego suk” wykonywałam pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Elżbiety Malickiej, a po jej śmierci, pod kierunkiem prof. dr hab. Tomasza Motyla, a także pod opieką merytoryczną dr Rafała Sapieryńskiego w Zakładzie Patologii Zwierząt, Katedry Nauk Klinicznych, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie.

Badania do pracy doktorskiej wykonywałam w ramach grantu pt. „Transkryptomyczne, hormonalne i metaboliczne wskaźniki prognostyczne w nowotworach gruczołu sutkowego suk” (**Zał.3, II, I pkt. 1**), którego byłam wykonawcą. Grant ten był realizowany we współpracy z Katedrą Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny

Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. W pracy doktorskiej zajmowałam się oceną ekspresji receptorów hormonów steroidowych, białek związanych z procesem apoptozy, receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-IR) oraz oceną indeksu apoptotycznego w korelacji z wiekiem suki, wielkością guza, typem histologicznym (na podstawie obowiązującej wówczas klasyfikacji WHO 1999 r.) oraz stopniem histologicznej złośliwości nowotworu (wg Misdorp 1999) oraz aktywnością proliferacyjną w nowotworach gruczołu sutkowego suk. Materiał do badań stanowiło 112 nowotworów nabłonkowych gruczołu sutkowego suk. Proces apoptozy badałam przy zastosowaniu metody immunohistochemicznej (Bcl-2, Bax, kaspaza-3, p53) oraz przy wykorzystaniu metody TUNEL (ang. terminal deoxynucleotide transferase-mediated d-UTP nick end labelling). Wykazałam, że hormonozależne guzy gruczołu sutkowego suk, podobnie jak raki piersi u kobiet, charakteryzują się mniejszą średnicą oraz mniejszym wskaźnikiem proliferacji, zwiększoną ekspresją IGF-IR oraz Bcl-2. Dodatkowo w rakach prostych wykazałam dodatnią korelację pomiędzy ekspresją IGF-IR a PR. Indeks apoptotyczny (ang. apoptotic index – AI) korelował z wiekiem psa, średnicą guza, aktywnością proliferacyjną, typem histologicznym, stopniem histologicznej złośliwości, a także z ekspresją białka p53, natomiast odwrotną korelację wykazałam z ER α , PR oraz IGF-IR. Zwiększona ekspresja p53 w komórkach nowotworowych korelowała ze wzrostem średnicy guza sutka oraz aktywnością proliferacyjną. Ponadto ekspresji białka p53 towarzyszyła zwiększona ekspresja IGF-IR oraz obniżenie ekspresji PR. Natomiast ekspresja Bax była związana z aktywnością proliferacyjną guza oraz ekspresją kaspazy-3. Dodatkowo w pracy dokonałam oceny ko-ekspresji białek Bcl-2 i Bax w komórkach nowotworowych, ale otrzymane zależności okazały się statystycznie nieistotne. Niniejsze wyniki wykazały jak wiele czynników jest zaangażowanych w proces rozwoju i progresji nowotworów gruczołu sutkowego u suk oraz sugerowały ich znaczenie prognostyczne.

W związku z tematyką pracy doktorskiej jaką były nowotwory gruczołu sutkowego u suk zgromadziłam i przeanalizowałam aktualne piśmiennictwo na ten temat, co zaowocowało autorstwem 4 publikacji przeglądowych:

1. Dolka I.*, Malicka E.: Rola estrogenów i progesteronu oraz ich receptorów w nowotworach gruczołu sutkowego u suk. *Życie Weterynaryjne*. 2007, 82(9), 746-749. (MNiSW₂₀₀₇: **0 pkt.**) * **autor korespondencyjny**

2. Dolka I., Malicka E.: Mioepitelialna histogeneza mieszanych guzów gruczołu sutkowego u psa. *Życie Weterynaryjne*. 2008, 83(2), 118-121. (MNiSW₂₀₀₈: **0 pkt.**) * **autor korespondencyjny**

3. Dolka I.*, Motyl T., Malicka E., Sapieryński R.: Nowotwory gruczołu sutkowego u suk – model badań raka piersi u kobiet. *Życie Weterynaryjne*. 2010, 85 (12), 965-971. (MNiSW₂₀₁₀: 6 pkt.) * **autor korespondencyjny**

4. Dolka I.*, Malicka E., Motyl T., Sapieryński R.: IGF-I i inne czynniki wzrostu w nowotworach gruczołu sutkowego u psów i ludzi – ich rola w nowotworzeniu oraz znaczenie rokownicze. *Medycyna Weterynaryjna*. 2010, 66 (11), 745-750. (MNiSW₂₀₁₀: 9 pkt., IF₂₀₁₀: 0) * **autor korespondencyjny**

W tym też czasie również razem z zespołem Zakładu Patologii, Katedry Nauk Klinicznych przygotowałam publikację oryginalną:

1. Badowska-Kozakiewicz A., Dolka I., Malicka E., Rodo A., Skrzypczak M., Sobczak-Filipiak M.: Retrospektywna ocena występowania nowotworów gruczołu mlekowego u psów w latach 1996-2006. *Życie Weterynaryjne*. 2007, 82(6), 472-476. (MNiSW₂₀₀₇: 0 pkt.)

Na początku mojej pracy naukowo-badawczej zapoznawałam się z techniką wykonywania preparatów histopatologicznych, specjalnych barwień histochemicznych, a w szczególności zainteresowałam się techniką immunohistochemiczną. W tym celu uczestniczyłam w szkoleniach w Warszawie oraz odbyłam staż w Wiedniu. W efekcie przygotowałam publikację, której celem była popularyzacja wiedzy w Polsce na temat immunohistochemii i jej zastosowaniem w weterynarii:

1. Dolka I.*: Immunohistochemia w diagnostyce weterynaryjnej – szerokie spektrum zastosowań. *Medycyna Weterynaryjna*. 2009, 65(11), 752-757. (MNiSW₂₀₀₉: 6 pkt., IF₂₀₀₉:0) * **autor korespondencyjny**

Jednocześnie uzyskane dotychczas wyniki badań realizowanych w ramach pracy doktorskiej zaprezentowałam na 4 konferencjach w Polsce i 1 za granicą:

1) Dolka I., Badowska-Kozakiewicz A., Sobczak-Filipiak M., Rodo A., Malicka E.: Rzadko spotykane nowotwory gruczołu sutkowego psów. XIII Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych „Od nauki do praktyki” Wydział Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, 18-20.09.2008 r., Olsztyn, Polska.

2) Dolka I., Malicka E.: „Expression of the insulin-like growth factor receptors (IGF-IR) and estrogen receptors α (ER α) in canine mammary tumors” Konferencja Komitetu Mikrobiologii PAN i SGGW „Vaccines: Advances in plant and microbial biotechnology, infectious immunity and cancer therapy”, 28-29.11.2008r. Warszawa, Polska.

3) Dolka I., Motyl T., Malicka E., Sapieryński R.: Relationship between receptors for insulin-like growth factor – I, steroid hormones and proliferative activity in canine mammary tumours. The 27th Meeting of the European Society for Veterinary Pathology and European College of Veterinary Pathologists. 09.-12.09.2009 r., Kraków, Polska.

4) Dolka I., Motyl T., Malicka E., Sapieryński R.: Immunohistochemical analysis of Bcl-2 protein in canine mammary tumours. The 27th Meeting of the European Society for Veterinary Pathology and European College of Veterinary Pathologists. 09.-12.09.2009 r., Kraków, Polska.

5) Dolka I., Motyl T., Malicka E., Sapieryński R.: Detection of apoptotic cells and immunohistochemical study of Bcl-2, Bax and caspase-3 in canine mammary tumors. The 28th Meeting of the European Society for Veterinary Pathology and European College of Veterinary Pathologists. 08.-11.09.2010 r., Belgrad, Serbia.

W czasie studiów doktoranckich oprócz badań z zakresu mojej pracy doktorskiej, rozpoczęłam również badania nad innymi tematami realizowanymi w Zakładzie. Efektem poczynionych w tym czasie obserwacji była publikacja dotycząca zmian w obrębie gruczołów dokrewnych u zwierząt:

1. Dolka I.*, Sapieryński R., Malicka E., Osińska B., Bielecki W.: Nowotwory wybranych gruczołów dokrewnych u zwierząt – przegląd przypadków w latach 1996-2007. *Medycyna Weterynaryjna*. 2009, 65(4), 262-267. (MNiSW₂₀₀₉: **6 pkt.**, IF₂₀₀₉:**0**) * **autor korespondencyjny**

W ramach współpracy z dr hab. Rafałem Sapieryńskim, prof. nadzw. oraz dr hab. Anna Cywińską, prof. nadzw. brałam również udział w opisanie ciekawego przypadku występowania licznych zmian patologicznych w macicy u kotki:

1. Sapieryński R.A., **Dolka I.**, Cywińska A.: Multiple pathologies of the feline uterus: a case report. *Veterinarni Medicina*. 2009, 52 (7), 345-350. (MNiSW₂₀₀₉: **20 pkt.**, IF₂₀₀₉: **0.644**)

W tym samym czasie w ramach współpracy z zespołem Zakładu Chorób Ptaków, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie zajmowałam się oceną ciekawych przypadków klinicznych – opis raka nerki u papużek falistych, mykobakteriozy u 7-letniej stokówki prążkowanej oraz zmian patologicznych obserwowanych w przebiegu zakażenia włoskowcem różycy w stadzie bażantów:

1. Ledwoń A., Szeleszczuk P., Dolka B., Sapieryński R., **Dolka I.**: Rak nerki u papużek falistych – opis wybranych przypadków. *Medycyna Weterynaryjna*. 2008, 64(9), 1161-1164. (MNiSW₂₀₀₈: **10 pkt.**, IF₂₀₀₈:**0**)

2. Ledwoń A., Szeleszczuk P., Malicka E., **Dolka I.**, Zwolska Z., Augustynowicz-Kopeć E., Zabost A.: Mycobacteriosis caused by *Mycobacterium genavense* in lineolated parakeets (*Bolborhynchus lineola*). A case report. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 2009, 23, 209-212. (MNiSW₂₀₀₉: **15 pkt.**, IF₂₀₀₉: **0.218**)

3. Karpińska E., Rzewuska M., **Dolka I.**, Szeleszczuk P., Żbikowski A., Kosowska G.: Włoskowiec różycy przyczyną problemów zdrowotnych w stadzie bażantów. *Polskie Drobiarstwo. Suplement Zdrowie*. 6, 2010. (ISSN 1231-0387) (MNiSW₂₀₁₀: **0 pkt.**)

W okresie przed uzyskaniem stopnia doktora zostałam zatrudniona na stanowisko asystenta w Zakładzie Patologii Zwierząt, Katedry Nauk Klinicznych, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie, a po zmianie struktury Wydziału (styczeń 2010 r.) –

w Zakładzie Patomorfologii Zwierząt Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej. Pracę doktorską obroniłam w 2010 roku z wyróżnieniem.

5.2 Osiągnięcia naukowo – badawcze po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk weterynaryjnych wyniki badań omówione w pracy doktorskiej zostały przedstawione w publikacji:

1. Dolka I. *, Motyl T., Malicka E., Sapieryński R., Fabisiak M.: Relationship between receptors for insulin-like growth factor – I, steroid hormones and apoptosis-associated proteins in canine mammary tumors. Polish Journal of Veterinary Sciences. 2011, 14 (2), 245-251. (MNiSW₂₀₁₁: 20 pkt., IF₂₀₁₁: 0.565) * autor korespondencyjny

W styczniu 2012 r. zostałam zatrudniona na stanowisku adiunkta w Zakładzie Patomorfologii Zwierząt Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie.

Problematyka związana z nowotworami gruczołu sutkowego suk pozostała w centrum moich zainteresowań naukowych. Kontynuowałam prace badawcze w kierunku poszukiwania potencjalnych markerów prognostycznych dla tych pacjentów. W działalności naukowej swoje zainteresowania poszerzyłam o poszukiwania markerów wspomagających diagnostykę guzów sutka nie tylko za pomocą histopatologii oraz immunohistochemii, ale również cytopatologii oraz cytomorfometrii. Dużą uwagę zwróciłam na ocenę wpływu badanych markerów na odległe wyniki leczenia i całkowity czas przeżycia pacjentów. Publikacje wyników moich badań z tego zakresu stanowią jedno-tematyczny cykl będący podstawą niniejszego wniosku.

Moja praca naukowa była związana z wieloma aspektami patologii weterynaryjnej, w wielu przypadkach była ona prowadzona w ramach współpracy krajowej oraz międzynarodowej. Głównymi kierunkami moich badań po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych były zagadnienia w obszarach:

1. Onkologia weterynaryjna

- badanie mechanizmów przerzutowania komórek nowotworowych gruczołu sutkowego suk,
- badanie profili transkryptomicznych oraz profilu ekspresji 317 mikroRNA nowotworów gruczołu sutkowego suk w zależności od typu histologicznego, stopnia histologicznej złośliwości oraz występowania przerzutów,
- charakterystyka histopatologiczna oraz immunohistochemiczna guzów gruczołu sutkowego suk – hemopoeza pozaszpikowa w guzie niezłośliwym, rak anaplastyczny oraz czerniak sutka,

- ocena przydatności badania cytologicznego i immunocytochemicznego w diagnostyce chłoniaków i trzewnej formy mięsaka histiocytarnego psów,
- ocena przydatności badania histopatologicznego oraz immunohistochemicznego w diagnostyce mięsaków poiniekcyjnych kotów i kostniakomięsaka psa w modelu *in ovo* oraz modelu mysim,

2. Patologia psów i kotów

- ocena zmian anatomopatologicznych i histopatologicznych narządów przy występowaniu wybranych jednostek chorobowych,

3. Patologia ptaków

- ocena zmian histopatologicznych narządów oraz znaczenie badania histopatologicznego w diagnostyce różnicowej wybranych chorób drobiu, gołębi, ptaków ozdobnych oraz wolno żyjących,
- opracowanie norm referencyjnych parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi łabędzi niemych,

4. Patologia świń

- ocena proliferacji komórek nabłonka żołądka świń w związku z zakażeniem *Helicobacter* sp. oraz ocena zmian patologicznych i histopatologicznych narządów świń zakażonych różnymi szczepami wirusa PRRS,

5. Patologia zwierząt wolno żyjących i egzotycznych

- ocena histologiczna narządów bobra europejskiego oraz badanie zmian histopatologicznych narządów bobra europejskiego, jelenia szlachetnego oraz australorzekotki szmaragdowej w związku z zakażeniem różnymi patogenami.

1. Onkologia weterynaryjna

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk weterynaryjnych oprócz kontynuowania badań własnych dotyczących guzów gruczołu sutkowego suk, dołączyłam do projektów badań na temat tych nowotworów prowadzonych przez liczny zespół pod kierownictwem dr hab. Magdaleny Król, prof. nadzw. z Katedry Nauk Fizjologicznych, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie. Te zagadnienia były realizowane w ramach grantów (**Zał. 3, II, I pkt. 3-4,7-8**) oraz prac doktorskich (lek. wet. Kingi Majchrzak, 2012 r.; lek. wet. Joanny Muchy, 2016 r.; mgr Małgorzaty Bulkowskiej, 2016 r.). Mój udział w nich polegał w dużej mierze na wykonywaniu badań histopatologicznych guzów gruczołu sukowego, jak również wsparciu merytorycznym w zakresie badań

immunohistochemicznych realizowanych przez młodszych pracowników naukowych przygotowujących swoje rozprawy doktorskie.

Badanie mechanizmów przerzutowania komórek nowotworowych gruczołu sutkowego suk

Jednym z celów podejmowanych badań było poznanie roli makrofagów towarzyszących nowotworowi (ang. tumor-associated macrophages – TAMs) w powstawaniu przerzutów raka gruczołu sutkowego suk oraz interakcji pomiędzy fibroblastami towarzyszącymi nowotworowi (ang. carcinoma-associated fibroblasts – CAFs) a komórkami nowotworowymi gruczołu sutkowego suk (za pomocą badań immunohistochemicznych, hodowli komórkowych oraz mikromacierzy). Otrzymane wyniki wykazały, że gęstość TAMs, ocenianych na podstawie wyznakowania przeciwciałem MAC387, była wyższa w guzach dających przerzuty. Dodatkowo ekspresja receptora dla czynnika wzrostu kolonii makrofagów (ang. macrophages colony stimulating factor receptor – MCSF-R) zwiększała się wraz ze wzrostem stopnia histologicznej złośliwości nowotworu i jego zdolnością do przerzutowania (publikacja 3). W badaniach z wykorzystaniem mikromacierzy DNA wykazano, że występowanie CAFs w środowisku komórek nowotworowych gruczołu sutkowego suk spowodowało w komórkach nowotworowych zwiększenie ekspresji genów zaangażowanych w adhezję i angiogenezę, a także przejście nabłonkowo-mezenchymalne, proces, który ma istotne znaczenie w transformacji nowotworowej (publikacja 4). W swojej działalności naukowej miałam możliwość uczestniczenia w nowatorskim projekcie dotyczącym oceny ekspresji i znaczenia układu grelinowego w nowotworach gruczołu sutkowego suk. Wyniki badań wskazały możliwość zastosowania antagonistów receptora grelinowego w skojarzonej terapii przeciwnowotworowej u suk z guzem sutka lub w celu zapobiegania powstawania przerzutów nowotworowych (publikacja 5). Efektem innego projektu, w którym brałam udział było wykazanie roli mieloidalnych komórek supresyjnych (ang. myeloid-deriver suppressor cell – MDSCs; które wykazują ekspresję antygenu powierzchniowego Gr-1) oraz czynnika transkrypcyjnego p-STAT3 w przerzutujących nowotworach gruczołu sutkowego suk. W dalszym etapie, z wykorzystaniem badań immunohistochemicznych guzów sutka, ale także badań krwi pacjentów z rozpoznany guzem, zbadano mechanizmy immunosupresyjne związane z obecnością MDSCs, limfocytów T-regulatorowych oraz ze zwiększoną ekspresją p-STAT3 i VEGF, które mogą przyczyniać się do progresji nowotworów gruczołu sutkowego suk (publikacja 2 i 8).

**Badanie profili transkryptomicznych oraz profilu ekspresji 317 mikroRNA nowotworów
gruczołu sutkowego suki w zależności od typu histologicznego, stopnia histologicznej
złośliwości oraz występowania przerzutów**

W innych badaniach celem było określenie profili transkryptomicznych raka gruczołu sutkowego suk o różnym stopniu złośliwości histologicznej (publikacja 6 i 7). Wytypowano 5 genów, których ekspresja najbardziej różniła się pomiędzy grupą obejmującą raki niskozróżnicowane (wysoki stopień złośliwości) a pozostałymi grupami. Podjęte analizy pokazały, że klasyfikacja nowotworów w oparciu o ich ekspresję genów może w przyszłości stanowić uzupełnienie oceny histopatologicznej (publikacja 6). Ponadto, uczestniczyłam w badaniach, których celem było określenie profilu ekspresji 317 mikroRNA (krótkie cząsteczki RNA, pełnią rolę regulatorową ekspresji genów) w 146 nowotworach gruczołu sutkowego suk – różnych typów histologicznych, stopni złośliwości histologicznej, o różnej zdolności do tworzenia przerzutów oraz w próbkach tkanki niezmięnionej. Wykazano istotne różnice we wzorcach ekspresji mikroRNA pomiędzy grupą z rakiem gruczołu sutkowego dającym przerzuty a grupą, u których przerzutów nie wykrywano. Uzyskane wyniki stwarzają potencjalne możliwości zastosowania tej metody w przyszłości do oceny rokowania u suk z rakami gruczołu sutkowego (publikacja 9).

Wyniki badań zostały opublikowane

1. Pawłowski K.M., Majewska A., Szyszko K., **Dolka I.**, Motyl T., Król M.: Gene expression pattern in canine mammary osteosarcoma. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2011, 14 (1), 11-20. (MNiSW₂₀₁₁: 20 pkt., IF₂₀₁₁: 0.565)
2. Król M., Pawłowski K.M., **Dolka I.**, Musielak O., Majchrzak K., Mucha J., Motyl T.: Density of Gr1-positive myeloid precursor cells, p-STAT3 expression and gene expression pattern in canine mammary cancer metastasis. *Veterinary Research Communications*. 2011, 35(7), 409-423. (MNiSW₂₀₁₁: 25 pkt., IF₂₀₁₁: 0.822)
3. Król M., Pawłowski K.M., Majchrzak K., **Dolka I.**, Abramowicz A., Szyszko K., Motyl T.: Density of tumor-associated macrophages (TAMs) and expression of their growth factor receptor MCSF-R and CD14 in canine mammary adenocarcinomas of various grade of malignancy and metastasis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2011, 14 (1), 3-10. (MNiSW₂₀₁₁: 20 pkt., IF₂₀₁₁: 0.565)
4. Król M., Pawłowski K.M., Szyszko K., Maciejewski H., **Dolka I.**, Manuali E., Jank M., Motyl T.: The gene expression profiles of canine mammary cancer cells grown with carcinoma-associated fibroblasts (CAFs) as a co-culture in vitro. *BMC Veterinary Research*. 2012, 8(1):35. (MNiSW₂₀₁₂: 45 pkt., IF₂₀₁₂: 1.861)
5. Majchrzak K., Pawłowski K.M., Orzechowska E.J., **Dolka I.**, Mucha J., Motyl T., Król M.: A role of ghrelin in canine mammary cancer cells proliferation, apoptosis and migration. *BMC Veterinary Research*. 2012, 23;8(1):170. (MNiSW₂₀₁₂: 45 pkt., IF₂₀₁₂: 1.861)

6. Pawłowski K.M., Maciejewski H., Majchrzak K., **Dolka I.**, Mol J.A., Motyl T., Król M.: Five markers useful for the distinction of canine mammary malignancy. BMC Veterinary Research. 2013, 9:138. doi: 10.1186/1746-6148-9-138. (MNiSW₂₀₁₃: **35 pkt.**, IF₂₀₁₃: **1.743**)

7. Pawłowski K.M., Maciejewski H., **Dolka I.**, Mol J.A., Motyl T., Król M.: Gene expression profiles of canine mammary carcinoma of various grade of malignancy. BMC Veterinary Research. 2013, 9:78. doi: 10.1186/1746-6148-9-78. (MNiSW₂₀₁₃: **35 pkt.**, IF₂₀₁₃: **1.743**)

8. Mucha J., Rybicka A., **Dolka I.**, Szymańska J., Manuali E., Parzeniecka-Jaworska M., Kluciński W., Król M.: Immunosuppression in dogs during mammary cancer development. Veterinary Pathology. 2016, 53(6), 1147-1153. (MNiSW₂₀₁₆: **40 pkt.**, IF₂₀₁₆: **1.996**)

9. Bulkowska M., Rybicka A., Kerem M.S., Ulewicz K., Witt K., Szymanska J., Taciak B., Klopfleisch R., Hellmen E., **Dolka I.**, Gure A.O., Mucha J., Mikow M., Giziński S., Krol M. MicroRNA expression patterns in canine mammary cancer show significant differences between metastatic and non-metastatic tumours. BMC Cancer. 2017, 17:728 doi: 10.1186/s12885-017-3751-1 (MNiSW₂₀₁₆: **30 pkt.**, IF₂₀₁₆: **3.288**)

oraz przedstawione podczas krajowych konferencji naukowych:

1) Król M., Pawłowski K.M., **Dolka I.**, Musielak O., Majchrzak K., Mucha J., Motyl T.: Density of Gr1-positive myeloid precursor cells, P-STAT3 expression and gene expression pattern in canine mammary cancer metastasis. The 25th Congress of the Polish Physiological Society. 15-17.09. 2011, Olsztyn, Polska.

2) Mucha J.M., Łukasz D., Skibniewski M., **Dolka I.**, Homa A., Bulkowska M., Motyl T., Król M.: The role of myeloid derived suppressor cells, p-STAT3 and Treg cells in developing immunosuppression in dogs with skin and mammary cancers. Chemical Approaches to Targeting Drug Resistance in Cancer Stem Cells. pp 73. COST Action CM1106 2nd Working Group Meeting. Warsaw University of Life Sciences. 19-20.09. 2013, Warszawa, Polska.

Otrzymałam Nagrodę I Stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych za rok 2012 za współautorstwo cyklu prac nr 4 i 5 dotyczących inwazyjności komórek nowotworowych w gruczole sutkowym suk. Publikacje nr 6 i 7 wchodzące w skład cyklu oryginalnych publikacji dotyczących onkogenomiki weterynaryjnej zostały nagrodzone Nagrodą I Stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w 2013 r oraz Nagrodą I Stopnia J.M. Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Z kolei publikacja nr 9 została nagrodzona Nagrodą II Stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w kategorii za pracę oryginalną opublikowaną w 2017 r. w zespole międzynarodowym w zagranicznym czasopiśmie z listy JCR.

**Charakterystyka histopatologiczna oraz immunohistochemiczna guzów gruczołu
sutkowego suk – hemopoeza pozaszpikowa w guzach niezłośliwych, rak anaplastyczny
oraz czerniak sutka**

W trakcie mojej działalności naukowej prowadziłam badania nad występowaniem i znaczeniem hemopoezy pozaszpikowej w nowotworach gruczołu sutkowego suk. Jest to

proces rzadko spotykany w tej lokalizacji, którego patogenezą nadal nie została poznana. Z wykorzystaniem metody immunohistochemicznej zostały potwierdzone i opisane ogniska hemopoezy pozaszpikowej w niezłośliwych guzach mieszanych u dwóch psów. Dzięki tej metodzie było również możliwe rozpoznanie raka anaplastycznego (rzadko spotykany typ histologiczny o bardzo agresywnym przebiegu klinicznym) oraz ogniska pierwotnego czerniaka gruczołu sutkowego suki. Podjęte badania są interesujące i ważne nie tylko ze względu na wspomnianą kazuistyczną rzadkość, ale także, z uwagi na brak lub skromne dane literaturowe na ten temat oraz trudności diagnostyczne związane z takimi przypadkami.

Wyniki wykonanych badań dotyczących nowotworów gruczołu sutkowego suk były prezentowane na konferencjach krajowych i zagranicznych:

1) Dolka I., Sobczak-Filipiak M., Król M. Extramedullary hematopoiesis in canine mammary tumor – two cases. 29th Meeting of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP) “Cutting Edge Pathology”, 07-10.09.2011, Uppsala, Szwecja.

2) Dolka I., Sapierzyński R.: Rak anaplastyczny gruczołu sutkowego psa – charakterystyka histopatologiczna oraz immunohistochemiczna przypadku XIV Kongres PTNW „Nauka praktyce” Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, 13-15.09.2012, Wrocław, Polska.

3) Dolka I., Jurka P., Kacprzak K. A case of cutaneous malignant melanoma of canine mammary gland. The 21st Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR). 24-26.08.2017, Berno, Szwajcaria.

Ocena przydatności badania cytologicznego i immunocytochemicznego w diagnostyce chłoniaków i trzewnej formy mięsaka histiocytarnego u psów

Od samego początku swojej działalności naukowej moje zainteresowania były skoncentrowane na szeroko pojętej patologii, epidemiologii i diagnostyce chorób psów i kotów. Brałam udział w badaniach pozwalających określić przydatność badania cytopatologicznego w onkologii weterynaryjnej. Badanie cytopatologiczne jest podstawową metodą stosowaną do przedoperacyjnego rozpoznawania nowotworów u ludzi jak również u zwierząt. To szybka, łatwa i stosunkowo tania metoda pozyskania materiału w sposób mało inwazyjny, która dostarcza bardzo ważnych klinicznie informacji dotyczących dalszego postępowania z pacjentem oraz rokowania. Skuteczność diagnostyki przed- i pooperacyjnej zwiększają badania dodatkowe – technika immunocytochemiczna (umożliwia wykrycie antygenów w rozmazie materiału pobranego różnymi metodami, np. biopsja aspiracyjna cienkoigłowa, nakłucie jamy ciała, popłuczyny) oraz technika immunohistochemiczna (identyfikacja antygenów w materiale tkankowym). Celem badań było porównanie dwóch metod stosowanych w ocenie chłoniaków u psów – ocena cytologiczna chłoniaków wg

klasyfikacji kilońskiej z oceną immunofenotypu komórek chłoniaka określonego za pomocą immunocytochemii (ocena ekspresji CD3 i CD79 α). Przeprowadzone badania wykazały wysoką zgodność ocen pomiędzy metodami (publikacja 1). W wielu podtypach chłoniaków ocena mikroskopowa preparatów cytologicznych barwionych metodami rutynowymi (odczynnik Giemsy) pozwoliła z dużą dozą prawdopodobieństwa oszacować immunofenotyp rozrostu. W innym badaniu wykazaliśmy przydatność cytopatologii i immunocytochemii w przedoperacyjnej diagnostyce trzewnej formy mięsaka histiocytarnego u berneńskich psów pasterskich (publikacja 2). Problematyka związana z przydatnością badania immunocytochemicznego i cytomorfometrycznego w rozpoznawaniu wybranych nowotworów złośliwych jam ciała i jamy ustnej u psów była tematem pracy doktorskiej lek. wet. Rafała Przeździeckiego, którego byłam promotorem pomocniczym. **(Załącznik 3. III, K).**

1. Sapieryński R., **Dolka I.**, Fabisiak M.: High agreement of routine cytopathology and immunohistochemistry in canine lymphomas. Polish Journal of Veterinary Sciences. 2012, 15(2), 247-252. (MNiSW₂₀₁₂: **20 pkt.**, IF₂₀₁₂: **0.570**)

2. Sapieryński R., Fabisiak M., **Dolka I.**: Cytopathological diagnosis of visceral histiocytic sarcoma in five dogs. Polish Journal of Veterinary Sciences. 2012, 15(4), 751-758. (MNiSW₂₀₁₂: **20 pkt.**, IF₂₀₁₂: **0.570**)

**Ocena przydatności badania histopatologicznego oraz immunohistochemicznego
w diagnostyce mięsaków poiniekcyjnych kotów i kostniakomięsaka psa
w modelu *in ovo* oraz modelu *mysim***

Kostniakomięsaki (osteosarcoma), najpowszechniejsze pierwotne nowotwory kości rozpoznawane u psów oraz mięsaki pojawiające się u kotów w miejscach wcześniej wykonywanych iniekcji (ang. feline injection-site sarcoma – FISS), charakteryzują się agresywnym zachowaniem biologicznym. Metodą leczenia tych guzów jest operacja chirurgiczna guza, chemio- i radioterapia jako metody uzupełniające postępowanie chirurgiczne. Wykorzystanie nanocząsteczek jako nośników leków przeciwnowotworowych, ułatwiających dystrybucję i wnikanie leków do wnętrza guzów litych (terapia celowana) w ostatnich latach budzi nadzieję w onkologii ludzkiej jak i weterynaryjnej.

Moje zainteresowanie wykorzystania nanocząsteczek w leczeniu kostniakomięsaków u psów i mięsaków pojawiających się w miejscu iniekcji u kotów jest związane ze współpracą naukową z prof. dr hab Romanem Lechowskim, dr n. wet. Katarzyną Zabielską-Koczywąs oraz zespołem: dr n. wet. Agata Wojtkowska, lek. wet. Magdalena Walewska, lek. wet. Anna Wojtalewicz oraz lek. wet. Anna Małek z Katedry Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie. Zagadnienie te były badane

w trakcie realizacji pracy doktorskiej Katarzyny Zabielskiej-Koczywąs (2013 r.), następnie kontynuowane w kolejnych latach.

Na początkowym etapie badań udało nam się opracować model *in ovo*, który polegał na przeszczepianiu komórek nowotworowych włókniakomięśaka kotów oraz kostniakomięśaka psów na błonę kosmówkowo-omoczniową zarodków kurzych (ang. chick embryo chorioallantoic membrane – CAM). Zostały ocenione cechy morfologiczne linii komórkowych włókniakomięśaka kotów (FFS1WAW, FFS1, FFS3), guzów wyhodowanych z tych linii oraz linii kostniakomięśaka psów za pomocą badań histopatologicznych i immunohistochemicznych, ze szczególnym uwzględnieniem analizy markerów proliferacji komórek. Wyniki doświadczenia zostały omówione w pracach:

1. Zabielska K., Lechowski R., Król M., Pawłowski K.M., Motyl T., **Dolka I.**, Żbikowski A.: Derivation of feline vaccine-associated fibrosarcoma cell line and its growth on chick embryo chorioallantoic membrane – a new *in vivo* model for veterinary oncological studies. *Veterinary Research Communications*. 2012, 36:227-233. (MNiSW₂₀₁₂: **25 pkt.**, IF₂₀₁₂: **1.076**)

2. Zabielska K., Król M., Pawłowski K., **Dolka I.**, Żbikowski A., Lechowski R.: Włókniakomięśak poszczepienny kotów – model diagnostyczny *in ovo*. Rozdział w monografii pt. „Postępy w diagnostyce i terapii chorób wewnętrznych zwierząt” Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Lublin, Polska, 2012, s. 30-38. ISBN 978-83-7259-206-4

3. Walewska M., **Dolka I.**, Małek A., Wojtalewicz A., Wojtkowska A. Żbikowski A., Lechowski R., Zabielska-Koczywąs K. Experimental tumor growth of canine osteosarcoma cell line on chick embryo chorioallantoic membrane (*in vivo* studies). *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2017, 59(1):30 doi: 10.1186/s13028-017-0298-8 (MNiSW₂₀₁₆: **30 pkt.**, IF₂₀₁₆: **1.472**)

4. Zabielska-Koczywąs K., Wojtkowska A., **Dolka I.**, Małek A., Walewska M., Wojtalewicz A., Żbikowski A., Lechowski R. 3D chick embryo chorioallantoic membrane model as an *in vivo* model to study morphological and histopathological features of fibrosarcomas. *BMC Veterinary Research*. 2017, 13(1): 201. doi: 10.1186/s12917-017-1114-4. (MNiSW₂₀₁₆: **40 pkt.**, IF₂₀₁₆: **1.750**)

Otrzymałam Nagrodę I Stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych za rok 2012 za współautorstwo publikacji nr 1.

W kolejnej serii doświadczeń przeprowadzone badania pozwoliły ocenić dystrybucję stabilizowanych glutationem nanocząstek złota w połączeniu z doksorubicyną (ang. glutathione-stabilized gold nanoparticles – Au-GSH-Dox) oraz ich wpływ na proces proliferacji, apoptozy oraz makrofagi związane z mikrośrodowiskiem nowotworu (ang. tumor-associated macrophages – TAM) w mięsakach związanych z miejscem iniekcji u kotów z wykorzystaniem modelu *in ovo*, jak również modelu mysiego. Wyniki przeprowadzonych badań zostały przedstawione w publikacjach:

1. Zabielska-Koczywąs K., **Dolka I.**, Król M., Żbikowski A., Lewandowski W., Mieczkowski J., Wójcik M., Lechowski R. Doxorubicin conjugated to glutathione stabilized gold nanoparticles (Au-GSH-Dox) as an effective therapeutic agent for feline injection-site sarcomas – chick embryo

chorioallantoic membrane study. *Molecules*. 2017, 22(2), pii: E253. doi:10.3390/molecules22020253 (MNiSW₂₀₁₆: 30 pkt., IF₂₀₁₆: 2.861)

2. Zabielska-Koczywās K., Wojtalewicz A., Użarowska E., Klejman A., Wojtkowska A., **Dolka I.**, Wojnicki M., Sobczak K., Wójcik M., Shen H., Ferrari M., Lechowski R. Distribution of glutathione-stabilized gold nanoparticles in feline fibrosarcomas and their role as a drug delivery system for doxorubicin-preclinical studies in a murine model. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018 Mar 29;19(4). pii: E1021. doi: 10.3390/ijms19041021. (MNiSW₂₀₁₆: 30 pkt., IF₂₀₁₆: 3.226)

Ponadto wyniki badań, w których uczestniczyłam zostały wykorzystane do przygotowania doniesień na konferencjach krajowych i międzynarodowych:

1) Zabielska K., Król M., Pawłowski K.M., **Dolka I.**, Żbikowski A., Wójcik M., Lewandowski W., Mieczkowski S., Lechowski R.: Colloid gold nanoparticles conjunct with doxorubicin – new preclinical studies in veterinary oncology. *Chemical Approaches to Targeting Drug Resistance in Cancer Stem Cells*. pp 63. COST Action CM1106 2nd Working Group Meeting. Warsaw University of Life Sciences.19-20.09. 2013, Warszawa, Polska.

2) Zabielska K., Król M., Pawłowski K. M., **Dolka I.**, Żbikowski A., Wójcik M., Lewandowski W., Mieczkowski J., Lechowski R: Colloid gold nanoparticles conjunct with doxorubicin as a potent therapeutic agent for feline injection-site sarcomas. *Experiments in vitro and in ovo*. Scientific proceedings of Feline Behaviour&Feline Neurology. ISFM Feline Veterinary Congress, 18-22.06.2014, Ryga, Łotwa. (doniesienie ustne)

3) Zabielska K., Król M., Pawłowski K.M., **Dolka I.**, Żbikowski A., Wójcik M., Lewandowski W., Mieczkowski J., Lechowski R.: Colloid gold nanoparticles conjunct with doxorubicin as a potent new therapeutic agent for feline injection-site sarcomas – experiments *in vitro* and *in ovo*”. The 5th International Congress Bionanomed, 26-28.03.2014, Krems an der Donau, Austria. (doniesienie ustne)

4) Zabielska K., **Dolka I.**, Król M., Pawłowski K.M., Żbikowski A., Wójcik M., Lewandowski W., Mieczkowski J., Lechowski R.: Colloid gold nanoparticles conjunct with doxorubicin for feline injection-site sarcoma treatment – new preclinical oncological studies” *ESVONC*, 25.05.2014, Wiedeń, Austria. (doniesienie ustne)

5) Walewska M., **Dolka I.**, Wojtkowska A., Małek A., Wojtalewicz A., Lechowski R., Zabielska K. Experimental tumor growth of canine osteosarcoma cell line on chick embryo chorioallantoic membrane (*in vivo* studies). *Proceedings of XVI Conference DIAGMOL 2015 „Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology”*. 28.11.2015. Warszawa, Polska.

6) Zabielska K., Wojtkowska A., **Dolka I.**, Żbikowski A., Lechowski R. Morphological and histopathological characterization of feline fibrosarcoma growth on CAM - a new model in veterinary oncological studies. *International Conference „Translational Research in Oncology in New Member State Economies” TRON*, 21-22.05.2015, Warszawa, Polska.

7) Walewska M., **Dolka I.**, Wojtkowska A., Małek A., Wojtalewicz A., Żbikowski A., Lechowski R., Zabielska-Koczywās K. Canine osteosarcoma cell line tumor growth on chick embryo chorioallantoic membrane (*in vivo* studies). *World Veterinary Cancer Congress (WVCC)*, 25-29.05.2016, Foz do Iguaçu, Brazylia.

8) Zabielska-Koczywās K., Wojtalewicz A., Użarowska E., Klejman A., **Dolka I.**, Wójcik M., Mieczkowski J., Lechowski R.: The influence of doxorubicin conjugated to gold nanoparticles on kidney and liver of nude mice with feline injection-site sarcomas *ESVCP/ESVONC Congress*, *European Society of Veterinary Oncology*, *European College of Veterinary Internal Medicine*, 20 – 22.10.2016, Nantes, Francja.

9) Zabielska-Koczywas K., **Dolka I.**, Król M., Wojtalewicz A., Żbikowski A., Uzarowska E., Klejman A., Lewandowski W., Wójcik M., Mieczkowski J., Lechowski R. Preclinical Studies on Doxorubicin Conjugated to Glutathione-Stabilized Gold Nanoparticles (Au-GSH-Dox) in Feline Injection-Site Sarcomas. BIT's 8th World Gene Convention-2017 (WGC-2017), 13-15.11.2017, Macau, Chiny. (doniesienie ustne)

2. Patologia psów i kotów

Ocena zmian anatomopatologicznych i histopatologicznych narządów przy występowaniu wybranych jednostek chorobowych

W swojej działalności naukowej miałam możliwość uczestniczenia w projekcie kierowanym przez dr hab. Piotra Jurkę, prof. nadzw. (**Zal.3. II, I pkt.5**) z Katedry Chorób Małych Zwierząt z Kliniką w badaniach nad oceną zmian histopatologicznych oraz ekspresji receptora estrogenowego alfa i progesteronowego w macicy oraz jajnikach u suk nieciążarnych po podaniu aglepristonu (RU534) w trzecim tygodniu fazy lutealnej. Były to pierwsze badania opisujące reakcję zapalną rozwijającą się w macicy w odpowiedzi na podawanie aglepristonu i próba wyjaśnienia tego mechanizmu. Przebieg doświadczenia oraz wyniki zostały przedstawione w publikacji:

1. Kacprzak K., Jurka P., **Dolka I.**, Czopowicz M., Ruszczak A., Duszewska A.: Changes in ovaries and uterus after aglepristone administration in the third week of luteal phase of non-pregnant bitches. PLoS One. 2015, 27;10(3): e0121597. doi:10.1371/journal.pone.0121597. (**MNiSW₂₀₁₅: 40 pkt., IF₂₀₁₅: 3.057**)

Jako patolog weterynaryjny, członek Zespołu kierowanego przez dr hab. Rafała Sapieryńskiego, prof. nadzw. zajmuję się również diagnostyką sekcyjną zwierząt w Zakładzie Patomorfologii Zwierząt. Nasze doświadczenia zarówno w pracy diagnostycznej i naukowej, jak również obserwowany w ostatnich latach wzrost zainteresowania tą metodą badawczą wskazały na potrzebę opracowania publikacji nie tylko dla lekarzy weterynarii wolnej praktyki, ale również dla lekarzy zajmującymi się badaniami naukowymi oraz dla właścicieli zwierząt:

1. Sapieryński R., Bielecki W., **Dolka I.**, Kliczkowska-Klarowicz K., Rodo A., Sendeczka H., Sobczak-Eilipiak M. Sekcja zwłok zwierząt – oczekiwania i możliwości. Życie Weterynaryjne. 2017, 92(2), 92-99. (**MNiSW₂₀₁₆: 4 pkt.**)

W trakcie mojej działalności naukowej zainteresowałam się problemem występowania śmierci zwierząt z przyczyn nienaturalnych, tj. niezwiązanych z chorobą ani procesem starzenia, lecz spowodowanych działaniem osób trzecich. Efektem tego była praca, której

byłam pomysłodawcą, koordynatorem oraz współwykonawcą, analizującą występowanie urazów mechanicznych u zwierząt stwierdzanych podczas sekcji zwłok przeprowadzanych w naszej jednostce. Z przeprowadzonych badań wynikało, że śmierć zwierząt spowodowana działaniem osób trzecich nie była częstą przyczyną zgonu wśród ogółu zwierząt, jednakże należała ona do najczęściej (42%) stwierdzanych przyczyn śmierci zwierząt spowodowanej urazem mechanicznym. Wyniki omówionych badań zawarte są w publikacji:

1. Okoń A., Warchałowska Z., Dolka I.*: Występowanie urazów mechanicznych u zwierząt – analiza 73 przypadków. *Życie Weterynaryjne*, 2014, 89, 1022-1026. (MNiSW₂₀₁₄: **4 pkt.**) * **autor korespondencyjny**

Rozbudzone wówczas zainteresowanie naukowe w zakresie diagnostyki sekcyjnej sprawiły, że zbadalam występowanie zmian patologicznych u zwierząt stwierdzanych na podstawie sekcji zwłok przeprowadzonych w Zakładzie Patomorfologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie w okresie przed II wojną światową. Wyniki tych badań zostały zaprezentowane w formie ustnego doniesienia konferencyjnego.

1) Dolka I., Matyjasiak A., Mickiewicz J., Czopowicz M.: Necropsy examinations performed at Division of Animal Pathomorphology, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences (SGGW) before the World War II. XV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, „*Per scientiam ad salutem animalium et hominum*”, Wydział Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, 22-24.09.2016, Lublin, Polska. (doniesienie ustne)

Osiągnięciem, które zasługuje na uwagę jest rozpoznanie i charakterystyka rozlanego ziarniniaka z tworzeniem struktur szklistych (ang. hyaline ring granuloma – HRG) w sieci u młodego psa, opublikowane w pracy:

1. Dolka I.*, Gruk-Jurka A., Jurka P., Dolka B., Bonecka J.: Disseminated hyaline ring granuloma in the omentum of a dog. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2017, 59:25. doi: 10.1186/s13028-017-0294-z (MNiSW₂₀₁₆: **30 pkt.**, IF₂₀₁₆: **1.472**) * **autor korespondencyjny**

HRG to zmiana patologiczna, która należy do zapaleń ziarniniakowych z udziałem wielojądrowych komórek olbrzymich typu ciała obcego, jest rzadko spotykana u ludzi; opisano kilka przypadków głównie w jamie ustnej, rzadziej w płucach, prostaty, pęcherzyku żółciowym czy w sieci (jeden przypadek), jak dotąd nie była opisywana w piśmiennictwie weterynaryjnym. Etiopatogeneza HRG nie została poznana, ale są proponowane dwie teorie. Jedna, potwierdzona w naszym badaniu, zakłada udział elementów roślinnych w tworzeniu szklistych struktur podobnych do pierścieni oraz indukcji przewlekłej odpowiedzi zapalnej. Wykazanie obecności HRG w sieci u psa było pierwszym doniesieniem takiej zmiany na świecie u zwierzęcia, dodatkowo w rzadko spotykanej lokalizacji. Zostało to wkrótce

docenione, co zaowocowało przyznaniem Nagrody I Stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych za rok 2017 w kategorii doniesienie kazuistyczne.

Badania, w których uczestniczyłam wpisują się w ważną i aktualną problematykę z zakresu geriatrii weterynaryjnej. Badania dotyczyły przyczyn zachowań agresywnych starych psów, co było tematem pracy doktorskiej lek. wet. Jagny Kudły (2012 r.). Mój udział w tym projekcie był związany z wykonaniem badań immunohistochemicznych i oceną ekspresji beta-amyloidu w mózgu, pniu mózgu i mózdzku pobranych od psów podczas sekcji zwłok. Wyniki badań wykazały, że odkładanie się złogów beta-amyloidu w ścianach naczyń krwionośnych oraz w postaci rozsianych blaszek w mózdzku występowały u psów z zaburzeniami poznawczymi, które są uważane za naturalny model choroby Alzheimera u ludzi. Zagadnienia dotyczące omówionych badań zostały również przedstawione w publikacji oraz doniesieniu konferencyjnym:

1. Kudła J., Bielecki W., **Dolka I.**, Kaleta T: Przyczyny zaburzeń poznawczych u starych psów. *Magazyn Weterynaryjny*. 2014, 204, 654-658. (MNiSW₂₀₁₄: **3 pkt.**)

2) Kudła J., Bielecki W., **Dolka I.**, Kaleta T: Zmiany zachowania u starych psów w świetle wyników badań histopatologicznych mózgu. XXI Międzynarodowy Kongres Medycyny Weterynaryjnej Małych Zwierząt PSLWMZ, 25-27.10. 2013, Warszawa, Polska.

Znaczną część mojego dorobku naukowego stanowią publikacje wykonywane w ramach współpracy naukowej z lekarzami z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW i innych ośrodków akademickich oraz z lecznic weterynaryjnych w Warszawie zajmującymi się chorobami zakaźnymi i wewnętrznymi zwierząt.

1. Gójska-Zygmunt O., Karaś-Tęcza J., Lechowski R., Rodo A., **Dolka I.**: Cutaneous paraneoplastic syndrome in a cat with thymoma. *Tierärztliche Praxis Ausgabe Kleintiere Heimtiere*. 2013, 41(4):255-259. ISSN: 1434-1239 (MNiSW₂₀₁₃: **15 pkt.**, IF₂₀₁₃: **1.774**)

2. Osińska B., Demiaszkiewicz A.W., Pyziel A.M., Kuligowska I., Lachowicz J., **Dolka I.**: Prevalence of *Dirofilaria repens* in dogs in central-eastern Poland and histopathological changes caused by this infection. *Bulletin Veterinary Institute Pulawy*. 2014, 58, 35-39. doi: 10.2478/bvip-2014-0006 (MNiSW₂₀₁₄: **20 pkt.**, IF₂₀₁₄: **0.357**)

3. Kacprzak K., Jurka P., **Dolka I.**: Ropomacicze u kotek – przypadki nietypowe. *Magazyn Weterynaryjny*. 2014, 23, 257-260. (MNiSW₂₀₁₄: **3 pkt.**)

4. Max A., Kołodziejczyk E., Sobczak-Filipiak M., **Dolka I.** Przypadek rozsianego mięsaka u młodej suki mastiffa angielskiego. *Życie Weterynaryjne*. 2015, 90(12), 815-818. (MNiSW₂₀₁₅: **4 pkt.**)

5. Kycko A., Jasik A., Bocian Ł, Otrócka-Domagala I., Mikiewicz M., Śmiech A., Łopuszyński W., **Dolka I.**, Nowak M., Madej J.A.: Epidemiological and histopathological analysis of 40 apocrine sweat gland carcinomas in dogs: a retrospective study. *Journal of Veterinary Research (formerly Bulletin Veterinary Institute Pulawy)*. 2016, 60(3), 331-337. doi 10.1515/jvetres-2016-0050 (MNiSW₂₀₁₆: **20 pkt.**, IF₂₀₁₆: **0.468**)

6. Kaszak I., Gruk-Jurka A., Kanafa S., Kacprzak K., Jurka P., **Dolka I.** Nietypowy przypadek włókniakogruczolaka u 7-letniej nieciążarnej kotki. *Weterynaria w Praktyce*. 2016, 13 (5), 43-46. (MNiSW₂₀₁₆: 3 pkt.)

Badania naukowe z tej tematyki były również prezentowane na wielu konferencjach naukowych w kraju i za granicą:

1) Osińska B., **Dolka I.**: The tracheal neuroendocrine carcinoma in a cat – case report. The 29th Meeting of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP) “Cutting Edge Pathology”, 07-10.09.2011, Uppsala, Szwecja.

2) Osińska B., **Dolka I.**: Salivary gland carcinosarcoma in a dog. The 30th Meeting of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP), Annual Meeting of the European College of Veterinary Pathologist (ECVP) and 24th Annual Meeting of the Spanish Society of Veterinary Pathology. 05-08.09. 2012, León, Hiszpania.

3) Osińska B., **Dolka I.**, Demiaszkiewicz A. W., Lachowicz J.: *Dirofilaria repens* – zmiany histopatologiczne w narządach wewnętrznych u psów. XIV Kongres PTNW „Nauka praktyce” Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, 13-15.09.2012, Wrocław, Polska.

4) Sobczak-Filipiak M., Sterna J., **Dolka I.**: Chordoma in the Tatra Mountain Sheepdog – a case report. The 31st Meeting of the European Society of Veterinary Pathology and the European College of Veterinary Pathologist. 04-07.09.2013, Londyn, Wielka Brytania.

5) Łukasz D., **Dolka I.**, Sapieryński R., Warchulska K.: Analysis of cellular proliferation in lesions of the canine nasal cavity. The 2nd Joint European Congress of the ESVP, ECVP and ESTP, 27-30.08.2014, Berlin, Niemcy.

6) Jurka P., Kacprzak K., **Dolka I.** Ovarian and uterine changes after the use of aglepristone in mid-luteal phase of non-pregnant bitches. The 18th Annual Conference of the European-Society-for-Domestic-Animal-Reproduction (ESDAR), 11-13.09.2014, Helsinki, Finlandia.

7) Jurka P., Kacprzak K., Kanafa S., Bonecka J., Dolka I.: A case of pregnancy in FeLV positive cat with advanced lymphoma. The 20th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR) and the 13th Conference of the Spanish Association for Animal Reproduction (AERA), 27-29.10.2016, Lizbona, Portugalia.

8) Kaszak I., **Dolka I.**, Kanafa S., Ruszczak A., Kacprzak K., Jurka P.: Ovarian cysts, mammary and endometrial hyperplasia in a queen after long treatment with medoxyprogesterone acetate. XV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, 22-24.09. 2016, Lublin, Polska. (doniesienie ustne)

9) Kaszak I., Kanafa S., Dolka I., Degórska B., Kalwas M., Jurka P.: SIPS, uterine rupture, peritonitis and ovarian cyst in 4-year old bitch - a case report. The 20th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR) and the 13th Conference of the Spanish Association for Animal Reproduction (AERA), 27-29.10.2016, Lizbona, Portugalia.

10) Kacprzak K., Dolka I., Rzewuska M., Ruszczak A., Kanafa S., Galanty M., Jurka P.: A case of pyometra in pregnant queen. The 20th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR) and the 13th Conference of the Spanish Association for Animal Reproduction (AERA), 27-29.10.2016, Lizbona, Portugalia.

11) Kanafa S., Skowron M., Kaszak I., Ruszczak A., Kacprzak K., **Dolka I.**, Jurka P.: Ziarniszczyk (granulosa cell tumor) u 2-letniej kotki. XV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych,

„*Per scientiam ad salutem animalium et hominum*”, Wydział Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, 22-24.09.2016, Lublin, Polska.

12) Surowiec Z., Wróblewska J., **Dolka I.**, Kaszak I., Jurka P.: Unusual hormonal profile in tomcat with fibroadenomatosis. The 51st Annual Conference of Physiology and Pathology, of Reproduction and 43rd Mutual Conference of Veterinary and Human Reproductive Medicine. 21-23.02. 2018, Hannover, Niemcy.

3. Patologia ptaków

Ocena zmian histopatologicznych narządów oraz znaczenie badania histopatologicznego w diagnostyce różnicowej wybranych chorób drobiu, gołębi, ptaków ozdobnych oraz wolno żyjących

W obrębie moich zainteresowań naukowych zawsze znajdowała się patologia ptaków. Przygotowując się do realizacji zadań związanych z badaniem mikroskopowym narządów ptaków postanowiłam skupić się na ocenie występowania zmian histopatologicznych w poszczególnych narządach ptaków lub jednostek chorobowych stwierdzanych na podstawie badania histopatologicznego w zależności od typu i wieku użytkowanych ptaków (kurczęta brojlery i kury nioski reprodukcyjne). Grupy wiekowe ptaków zostały określone ze względu na cykl produkcji drobiu. W piśmiennictwie krajowym jak dotychczas nie przeprowadzono tego typu analizy. Uzyskane wyniki były prezentowane na konferencji Europejskiego Towarzystwa Patologów Weterynaryjnych oraz opublikowane:

1) **Dolka I.**, Sapieryński R., Bielecki W., Malicka E., Żbikowski A., Szeleszczuk P. Histopathological lesions in chicken broilers and layers – a retrospective study of 189 cases. The 29th Meeting of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP) „Cutting Edge Pathology”, 07-10.09.2011, Uppsala, Szwecja.

1. Dolka I.*, Sapieryński R., Bielecki W., Malicka E., Żbikowski A., Szeleszczuk P.: Histopathology in diagnosis of broiler chicken and layer diseases – review of cases 1999-2010. Polish Journal of Veterinary Sciences. 2012, 15 (4), 773-779. (MNiSW₂₀₁₂: **20 pkt.**, IF₂₀₁₂: **0.570**) * **autor korespondencyjny**

Analiza otrzymanych wyników pozwoliła zwrócić uwagę na wartość badania histopatologicznego w diagnostyce chorób ptaków, które nie tylko zawęży krąg różnicowo-diagnostyczny, ale również umożliwia określenie ostatecznego rozpoznania w oparciu o stwierdzenie zmian patognomicznych (np. obecność ciałek wtrętowych). Prezentowane badania obejmowały dużą grupę ptaków i tym samym mogą nieść ze sobą aspekt poznawczy (poszerzenie wiedzy na temat występowania chorób drobiu na terenie naszego kraju) oraz praktyczny. W badaniach tych wykazano, między innymi, że zmiany histopatologiczne najczęściej były stwierdzane w wątrobie zarówno u kurcząt brojlerów, jak i u kur niosek,

dlatego w celu kompleksowego naświetlenia problematyki chorób wątroby ptaków przygotowałam serię prac przeglądowych z tego zakresu:

1. Dolka I.*, Dolka B.: Zmiany sekcyjne i histopatologiczne w wątrobie w przebiegu niektórych chorób ptaków Część I. Choroby wirusowe i bakteryjne. *Życie Weterynaryjne*. 2012, 87, 373-380. (MNiSW₂₀₁₂: 4 pkt.) * **autor korespondencyjny**

2. Dolka I.*, Dolka B.: Zmiany sekcyjne i histopatologiczne w wątrobie w przebiegu niektórych chorób ptaków Część II. Choroby grzybicze oraz pasożytnicze. *Życie Weterynaryjne*. 2012, 87, 478-482. (MNiSW₂₀₁₂: 4 pkt.) * **autor korespondencyjny**

3. Dolka I.*, Dolka B.: Zmiany sekcyjne i histopatologiczne w wątrobie w przebiegu niektórych chorób ptaków. Część III. Choroby niezakaźne, metaboliczne i nowotworowe. *Życie Weterynaryjne*. 2012, 87, 742-748. (MNiSW₂₀₁₂: 4 pkt.) * **autor korespondencyjny**

Dzięki sprzyjającej atmosferze i szerokiej współpracy naukowej w Zakładzie Chorób Ptaków Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie stworzonej przez prof. dr hab. Piotra Szeleszczuka i pracowników prowadziłam badania nad występowaniem wad rozwojowych u zarodków kurzych linii kur mięsnych Ross 308. Jaja wylęgowe (wybrakowane, odpad powylęgowy) zostały poddane szczegółowej ocenie embriopatologicznej ze szczególnym określeniem rodzaju deformacji i fazy rozwojowej zarodka. Wyniki tych badań zostały upowszechnione na konferencji zagranicznej:

1) Dolka I., Kosowska G., Żbikowski A., Dolka B., Doner S., Szeleszczuk P.: The incidence of gross malformations in chick embryos of Ross 308 broilers. The 30th Meeting of the European Society of Veterinary Pathology (ESVP), Annual Meeting of the European College of Veterinary Pathologist (ECVP) and the 24th Annual Meeting of the Spanish Society of Veterinary Pathology. 05-08.09.2012, León, Hiszpania.

Uczestniczyłam także w badaniach nad chorobami zakaźnymi odpowiedzialnymi za straty ekonomiczne w branży drobiarskiej, m.in. zakażenia bakteryjne *Mycoplasma synoviae*, *Enterococcus cecorum* czy pasożytnicze *Histomonas meleagridis*. Brałam udział w rozpoznaniu pierwszych przypadków w Polsce: enterokokowe zapalenie kręgosłupa u kurcząt brojlerów, jak również gruczolakowatość jelita u kury nioski ze stwierdzonym syndromem EAA (ang. egg apical abnormality). Dodatkowe badania naukowe, w których brałam udział związane były z oceną wpływu suchej dezynfekcji ściółki na wyniki produkcyjne, status zdrowotny oraz jakość skóry podeszwy stóp kurcząt brojlerów. Badania histopatologiczne, którymi się zajmowałam pozwoliły na rozpoznanie zapalenia skóry podeszwy stopy (ang. foodpad dermatitis – FPD) i określenie nasilenia zmian w poszczególnych grupach ptaków. Badania były prowadzone we współpracy z zespołem z Zakładu Hodowli Drobiu, Katedry Szczegółowej Hodowli Zwierząt, Wydziału Nauk o Zwierzętach, SGGW w Warszawie.

Rezultaty wspólnie przeprowadzonych doświadczeń zostały zaprezentowane w postaci publikacji, rozdziałów w monografii:

1. Dolka B., Żbikowski A., Szeleszczuk P., **Dolka I.**: Histomonozja stad rodzicielskich brojlerów kurzych w świetle własnych obserwacji. Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem pasożytów. 01-02.07.2011, Wrocław, Polska. (doniesienie ustne). Opublikowane jako: rozdział w monografii. Wieliczko A. (red.) Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław, s. 54-59. ISBN: 978-83-925931-1-9.

2. Szeleszczuk P., Dolka B., Żbikowski A., **Dolka I.**, Peryga M.: Pierwszy przypadek enterokokowego zapalenia kręgosłupa u kurcząt brojlerów w Polsce. *Medycyna Weterynaryjna*. 2013, 69 (5), 298-303. (MNiSW₂₀₁₃: 15 pkt., IF₂₀₁₃: 0.196)

3. Dolka B., Szeleszczuk P., **Dolka I.** Wąsowicz M.: Przypadki *omphalitis* w stadzie strusiąt – doniesienie wstępne. 27-28.06.2013, Wrocław, Polska. Opublikowane jako rozdział w monografii. Wieliczko A. (red.): Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów. 2013, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław, s. 195-198. UP ISBN: 978-83-7717-139-4

4. Szeleszczuk P., Żbikowski A., Dolka B., **Dolka I.**, Szubstarski J., Sikora W., Barabasz S., Szewczyk R.: Zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego w stadach kurcząt brojlerów – ignorancja czy bezradność? 27-28.06.2013, Wrocław, Polska. (doniesienie ustne). Opublikowane jako rozdział w monografii. Wieliczko A. (red.): Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów. 2013, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław, s. 107-118. ISBN: 978-83-7717-139-4

5. Dolka B., Szeleszczuk P., **Dolka I.**: Zmiany w obrębie kręgosłupa w przebiegu zakażenia *Enterococcus cecorum* u kur. *Życie Weterynaryjne*, 2014, 89, 339-341. (MNiSW₂₀₁₄: 4 pkt.)

6. Dolka B., Żbikowski A., **Dolka I.**, Szeleszczuk P.: Histomonosis - an existing problem in chicken flocks in Poland. *Veterinary Research Communications*. 2015, 39 (3): 189-195. doi 10.1007/s11259-015-9637-2 (MNiSW₂₀₁₅: 25 pkt., IF₂₀₁₅: 0.988)

i doniesień konferencyjnych:

1) Szeleszczuk P., Żbikowski A., **Dolka I.**, Gawlik P., Szewczyk R., Mieszczyński T.: Zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu E u drobiu. Sesja Choroby Drobiu. I Kongres Praktyki Weterynaryjnej. 9-10.04.2011, Łódź, Polska. (doniesienie ustne)

2) **Dolka I.**, Dolka B., Nerc J., Szeleszczuk P.: A case of adenocarcinomatosis in commercial layer with Egg Apical Abnormality (EAA) syndrome. The 2nd Joint European Congress of the ESVP, ECVP and ESTP, 27-30.08.2014, Berlin, Niemcy.

3) Dolka B., **Dolka I.**, Barabasz S., Szeleszczuk P.: Pathological lesions associated with enterococcal infections in broiler chickens from different flock. The 33rd Annual Meeting of the European Society of Veterinary Pathology & the 26th Annual Meeting of the European College of Veterinary Pathologists, 02-05.09.2015, Helsinki, Finlandia.

4) Dolka B., Żbikowski A., **Dolka I.**, Szeleszczuk P.: Histomonas meleagridis/infection in broiler breeders flock. Short oral presentation at the 3rd International Symposium on Parasite Infections in Poultry, 01-02.07.2016, Wiedeń, Austria. (doniesienie ustne)

5) Łukasiewicz M., Wnęk K., Matuszewski A., Niemiec J., **Dolka I.**, Żbikowski A., Siennicka A., Riedel J., Damaziak K., Michalczyk M.: Effect of dry disinfection of litter on production results,

health status and quality of footpad skin of broiler chickens. XXVIII International Poultry Science Symposium PB WPSA. 14-16.09.2016, Licheń Stary, Polska. (doniesienie ustne).

Stale uczestniczę w badaniach prowadzonych przez dr. n. wet. Aleksandrą Ledwoń z Zakładu Patologii Zwierząt Egzotycznych, Laboratoryjnych, Nieudomowionych i Ryb oraz przez pracowników Zakładu Chorób Ptaków Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie, dotyczących głównie chorób zakaźnych oraz nowotworowych gołębi, ptaków ozdobnych oraz ptaków wolno żyjących. Dzięki tej współpracy mam możliwość zbadania ciekawych przypadków klinicznych. Szczególną uwagę zwróciły przypadki nieprawidłowego upierzenia u młodych gołębi pocztowych (*Columba livia var. domestica*). Badania polegały na ustaleniu etiologii tych zmian za pomocą przyżyciowych, jak i pośmiertnych metod diagnostycznych, w tym badanie histopatologiczne nie tylko narządów, ale również piór gołębi.

1. Dolka B., Dolka I., Ledwoń A., Sapieryński R., Koralewski A., Szeleszczuk P.: Investigations into feather abnormalities in racing pigeons. *Medycyna Weterynaryjna*. 2016, 72 (11), 693-698. (MNiSW₂₀₁₆: 15 pkt., IF₂₀₁₆: 0.161)

Jestem również współautorem opisów przypadków występowania bornawirozy oraz zakażenia wirusami polioma u kanarków (*Serinus canaria*) rozpoznanych w Polsce. Bornawirusy ptaków powodują neuropatyczne rozszerzenie przedżołądka (ang. proventricular dilatation disease – PDD) głównie u papug, ale także tę chorobę zdiagnozowano u innych ptaków, w tym u kanarków. Opisane przez nas przypadki PDD pochodziły z różnych hodowli, co mogło świadczyć o tym, iż problem bornawirozy kanarków w Polsce jest szeroko rozpowszechniony, także za sprawą powszechnego w ostatnich latach importu tych ptaków. Zgodnie z naszą wiedzą, dotychczas nie opisano występowania zakażeń wirusem polioma w krajowych hodowlach kanarków. Zakażenia wirusami polioma u ptaków po raz pierwszy były stwierdzane u papużek falistych, a towarzyszące im objawy nazwano chorobą opierających się papużek falistych (ang. budgerigar fledgling disease – BFD). W badanym stadzie kanarków wykazano charakterystyczne zmiany histopatologiczne dla zakażenia poliowirusem ptaków, jak również udało się potwierdzić obecność tego czynnika chorobotwórczego metodą PCR.

1. Ledwoń A., Dolka I., Dolka B., Sienkiewicz B., Szeleszczuk P. Przypadki bornawirozy u kanarków rozpoznane w Polsce. *Medycyna Weterynaryjna*. 2015, 71(8), 518-521. (MNiSW₂₀₁₅: 15 pkt., IF₂₀₁₅: 0.195)

2. Ledwoń A., Dolka I., Łukasiewicz M., Sienkiewicz B., Szeleszczuk P. Zakażenie wirusem polioma w stadzie kanarków. *Medycyna Weterynaryjna*. 2015, 71 (2), 118-121. (MNiSW₂₀₁₅: 15 pkt., IF₂₀₁₅: 0.195)

Uczestniczyłam także w badaniach poświęconych wykrywaniu przywr z rodziny *Echinostomatidae* w hodowlach gołębi pocztowych, jak również przywry naczyń krwionośnych *Dendritobilharzia pulverulenta* u łabędzia niemego (*Cygnus olor*) w Polsce. Ponadto brałam również udział w badaniach nad efektami leczenia raka płaskonabłonkowego u żako (*Psittacus erithacus erithacus*) oraz mykobakteriozy u papużek falistych (*Melopsittacus undulatus*). Jestem współautorem opisu przypadku mykobakteriozy u zwisogłówki koroniastej (*Loriculus galgulus*). Wyniki tych prac zostały przedstawione w publikacjach lub doniesieniach konferencyjnych:

1. Ledwoń A., Dolka B., **Dolka I.**, Szeleszczuk P.: Successive therapy of squamous cell carcinoma in African grey parrot. *Medycyna Weterynaryjna*. 2013, 69 (5), 304-307. (MNiSW₂₀₁₃: **15 pkt.**, IF₂₀₁₃: **0.196**)

2. Ledwoń A., **Dolka I.**, Dolka B., Cegiełkowska M., Czopowicz M., Szeleszczuk P. Multidrug therapy of *Mycobacterium avium subsp. avium* infection in experimentally inoculated budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Avian Pathology*. 2015, Vol. 44, No. 6, 470-474 doi 10.1080/03079457.2015.1086973 (MNiSW₂₀₁₅: **35 pkt.**, IF₂₀₁₅: **1.336**)

3. Ledwoń A., Dolka B., Piasecki T., **Dolka I.**, Szeleszczuk P.: Invasion of flukes of the *Echinostomatidae* family in racing pigeon (*Columba livia* var. *domestica*) lofts in Poland. *Avian Diseases*. 2016, 60(2):523-7. doi: 10.1637/11343-120715-CaseR. (MNiSW₂₀₁₆: **30 pkt.**, IF₂₀₁₆: **1.109**)

1) **Dolka I.**, Dolka B., Żbikowski A., Szeleszczuk P.: Vascular hypertrophy in relation to schistosomiasis in mute swan in Poland. The 2nd Joint European Congress of the ESVP, ECVP and ESTP, 27-30.08.2014, Berlin, Niemcy.

2) Warchulska K., **Dolka I.**, Rosińska E., Barszcz K., Sobczak-Filipiak M., Łukasz D., Dzierżanowska-Góryń D.: Mycobacteriosis in the blue-crowned hanging parrot (*Loriculus galgulus*) – a case report. The 2nd Joint European Congress of the ESVP, ECVP and ESTP. 27-30.08.2014, Berlin, Niemcy.

Uczestniczyłam w badaniach związanych z pracą doktorską lek. wet. Beaty Dolki (2011 r.) nad oceną odpowiedzi immunologicznej u łabędzi niemych immunizowanych przeciwko influencji ptaków szczepionką inaktywowaną. Łabędzie nieme należą do bezobjawowych nosicieli i siewców wirusów grypy ptaków. Gatunek ten został uznany za „wskaźnikowy” (ang. sentinel birds) w programach monitoringu zakażeń wirusem HPAI dzikich ptaków. Konieczność wdrożenia radykalnych metod administracyjnego zwalczania HPAI wobec tego gatunku, objętego prawną ochroną w Polsce, budził kontrowersje i opór etyczny. Uzyskane wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły ocenić skuteczność szczepionki H5N2, chociaż dalsze badania w tym kierunku są potrzebne. Szczepienie ochronne może mieć praktyczne znaczenie dla łabędzi niemych trzymanyh w ogrodach zoologicznych, parkach dzikich zwierząt lub ośrodkach rehabilitacji. Wyniki te zostały opublikowane w poniższej pracy:

I. Dolka B., Żbikowski A., Dolka I., Szeleszczuk P.: The response of mute swans (*Cygnus olor*, Gm.1789) to vaccination against avian influenza with an inactivated H5N2 vaccine. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2016, 58:74-82. DOI 10.1186/s13028-016-0255-y (**MNiSW₂₀₁₆: 30 pkt., IF₂₀₁₆: 1.472**)

Opracowanie norm referencyjnych parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi łabędzi niemych

Oprócz tematów z zakresu patologii ptaków, brałam udział w opracowaniu norm referencyjnych parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi dla łabędzi niemych (*Cygnus olor*) z uwzględnieniem wieku i płci tych ptaków. Współpraca z pracownikami Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej oraz ornitologiem dr hab. Radosławem Włodarczykiem z Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego zaowocowała współautorstwem publikacji, która jest pierwszą pracą na ten temat w Polsce, a także w Europie Środkowej i jedną z nielicznych na świecie.

I. Dolka B., Włodarczyk R., Żbikowski A., Dolka I., Szeleszczuk P., Kluciński W.: Hematological parameters in relation to age, sex and biochemical values for mute swans (*Cygnus olor*). *Veterinary Research Communications*. 2014, 38: 93-100. doi: 10.1007/s11259-014-9589-y. (**MNiSW₂₀₁₄: 25 pkt., IF₂₀₁₄: 1.236**)

Wyniki badań z omawianego zakresu zostały upowszechnione na konferencjach krajowych i międzynarodowych:

1) Ledwoń A., Dolka B., Dolka I., Szeleszczuk P.: Terapia raka płaskonabłonkowego u żako (*Psittacus erithacus erithacus*). XIV Kongres PTNW „Nauka praktyce” Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, 13-15.09.2012, Wrocław, Polska.

2) Doner S., Dolka I., Barszcz K., Ledwoń A., Szeleszczuk P., Keller M.: Przypadek pęknięcia serca u głuszca zwyczajnego (*Tetrao urogallus*). XIV Kongres PTNW „Nauka praktyce” Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, 13-15.09.2012, Wrocław, Polska

3) Ledwoń A., Dolka I., Dolka B., Cegiełkowska M., Szeleszczuk P., Czopowicz M.: Multidrug therapy of *Mycobacterium avium subsp. avium* infection in experimentally inoculated budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Proc Int Conf Dis Zoo Wild Anim*. 2014, pp. 167-168. International Conference on Diseases of Zoo and Wild Animals, 28-31.05.2014, Warszawa, Polska.

4) Ledwoń A., Dolka B., Dolka I., Piasecki T., Szeleszczuk P.: Identification of *Echinostoma revolutum* as a fatal pathogen for racing pigeons (*Columba livia* var. *domestica*). *Proceedings of XVI Conference DIAGMOL 2015 „Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology”*. 28.11.2015, Warszawa, Polska. ISBN: 9788375836486.

5) Ledwoń A., Dolka B., Piasecki T., Dolka I., Szeleszczuk P.: Inwazja przywr z rodziny *Echinostomatidae* w hodowlach gołębi pocztowych (*Columba livia* var. *domestica*) – analiza przypadków. 6 Zlot Kolumbopatologów Polskich. Aktualne problemy w ochronie zdrowia gołębi. pp.150-153, 14-15.10.2016, Sierpc, Polska. (doniesienie ustne)

6) Adamczyk K., Szeleszczuk P., Ledwoń A., Dolka I.: Próba zastosowania PCR i LAMP do diagnostyki molekularnej zakażeń CoHV-1 u gołębi domowych (*Columba livia* var. *domestica*). 6 Zlot

Kolumbopatologów Polskich. Aktualne problemy w ochronie zdrowia gołębi. pp. 174-183, 14-15.10.2016, Sierpc, Polska. (doniesienie ustne)

7) Ledwoń A., **Dolka I.**, Rodo A., Sienkiewicz B., Szeleszczuk P.: The case of necrosis of the brain in roller canary. ICARE International Conference on Avian the Herpetological And Exotic Mammal Medicine, 25-29. 03.2017, Wenecja, Włochy.

4. Patologia świń

Ocena proliferacji komórek nabłonka żołądka świń w związku z zakażeniem *Helicobacter* sp. oraz ocena zmian patologicznych i histopatologicznych narządów świń zakażonych różnymi szczepami wirusa PRRS

Innym zagadnieniem, w którego badaniu uczestniczyłam w trakcie mojej działalności naukowej była ocena wpływu zakażenia drobnoustrojami z rodzaju *Helicobacter* sp. u świń na proliferację komórek nabłonka gruczołów odźwiernikowych. Badania te były prowadzone pod kierunkiem dr hab. Rafała Sapieryńskiego, prof. nadzw. Ocena proliferacji komórek została przeprowadzona za pomocą badania immunohistochemicznego (z wykorzystaniem antygenu Ki67) w kilku grupach zwierząt w zależności od obecności zapalenia błony śluzowej żołądka oraz od gatunku *Helicobacter* sp. Otrzymane wyniki nie wykazały, aby kolonizacja bakteryjna żołądka świń miała znaczący wpływ na intensywność aktywności proliferacyjnej komórek gruczołów w poszczególnych grupach. Wyniki tych badań zostały przedstawione w artykule:

1. Sapieryński R., Fabisiak M., Kizerwetter-Świda M, **Dolka I.**: *Helicobacter* sp. microorganisms do not alter proliferative activity of gastric epithelial cells in naturally infected swine. Bulletin Veterinary Institute Pulawy. 2011, 55, 9-14. (MNiSW₂₀₁₁: **20 pkt.**, IF₂₀₁₁: **0.414**)

W 2012 r. dołączyłam do badań realizowanych w ramach europejskiego projektu NADIR (The Network of Animal Disease Infectiology Research Facilities, FP7-228394) na temat zespołu rozrodczo-oddechowego świń (ang. porcine reproductive and respiratory syndrome – PRRS) kierowanych przez prof. dr hab. Tomasza Stadejka z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. Badania te były prowadzone we współpracy z Państwowym Instytutem Weterynaryjnym w Puławach oraz Państwowym Instytutem Weterynaryjnym Duńskiego Uniwersytetu Technicznego (DTU-Vet) w Lindholm, Dania, gdzie odbyłam krótkoterminowy staż w laboratorium klasy BSL-3. Ze względu na złożoną, do końca nie poznaną etiopatogenezę PRRS, zmienność wirusa PRRS, jak również trudności w skutecznym zwalczaniu, choroba ta nadal stanowi poważny problem ekonomiczny

w produkcji świń. Celem badania była ocena patogenności wschodnioeuropejskich szczepów PRRSV z wykorzystaniem dwóch szczepów z Białorusi i Rosji należących do podtypu 2 oraz klasycznego szczepu z podtypu 1 wyizolowanego w Danii. Najsilniejsze objawy kliniczne, jak również zmiany anatomopatologiczne w płucach oraz zmiany histopatologiczne w płucach i tchawicy zaobserwowano w grupie świń zakażonej białoruskim szczepem Bor. Efektem współpracy jest współautorstwo publikacji:

1. Stadejek T., Erik Larsen L., Podgórska K., Bøtner A., Botti S., **Dolka I.**, Fabisiak M., Heegaard P. M.H., Hjulsager C., Huć T., Kvisgaard L. K., Sapieryński R., Nielsen J. Pathogenicity of three genetically diverse strains of PRRSV Type 1 in specific pathogen free pigs. *Veterinary Microbiology*. 2017, 209, 13-19. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.05.011. (MNiSW₂₀₁₆: **40 pkt.**, IF₂₀₁₆: **2.628**)

5. Patologia zwierząt wolno żyjących i egzotycznych

Ocena histologiczna narządów bobra europejskiego oraz badanie zmian histopatologicznych narządów bobra europejskiego, jelenia szlachetnego i australorzekotki szmaragdowej w związku z zakażeniem różnymi patogenami

W ostatnim czasie przeprowadziłam badania z zakresu histologii wybranych narządów bobra europejskiego (*Castor fiber*). Jak dotąd większość publikacji, w tym krajowych podejmowała kwestie dotyczące anatomii, behawioryzmu, jak również stanu populacji bobrów europejskich i potencjalnych zagrożeń, co jest dość oczywiste, biorąc pod uwagę znaczenie tego gatunku w środowisku. Stan wiedzy na temat budowy narządów bobra w oparciu o badanie histologiczne, czy też w porównaniu do innych gatunków gryzoni jest ubogi. Przykładowo, pojedyncze opracowania poświęcono na temat obrazu mikroskopowego gruczołów okołoodbytowych, szyszynki, układu rozrodczego samic bobrów, podczas gdy badania w tym zakresie prowadzone na myszach i szczurach laboratoryjnych, bądź dzikich małych gryzoniach są liczniejsze. W związku z powyższym i dostępnością materiału (przy współpracy z prof. dr hab. Włodzimierzem Klucińskim z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie oraz z prof. dr hab. Zygmuntem Giżejewskim z Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, który jest światowy autorytetem w zakresie zwierząt dzikich), podjęłam się opracowania podstawowego opisu mikroskopowego wybranych narządów bobrów. Uzyskane wyniki zostały opisane w publikacji, która, według mojej najlepszej wiedzy, jest pierwszym na świecie doniesieniem na ten temat:

1. **Dolka I.***, Giżejewska A., Giżejewski Z., Kluciński W., Kołodziejska J.: Histological evaluation of selected organs of the Eurasian Beavers (*Castor fiber*) inhabiting Poland. *Anatomia, Histologia,*

Embryologia, Journal of Veterinary Medicine Series C. 2015, 44 (5), 378-390. DOI: 10.1111/ahc.12150 (MNiSW₂₀₁₆: 20 pkt., IF₂₀₁₆: 0.615) * autor korespondencyjny

Druga publikacja dotycząca bobra europejskiego opisuje występowanie adiaspiromykozy płucnej u tego gatunku w Polsce (pierwsze doniesienie na ten temat). Adiaspiromykoza, rzadko spotykane zakażenie grzybicze płuc, była stwierdzona u dwóch zwierząt. Badanie histopatologiczne oraz dodatkowe metody histochemiczne pozwoliły na opisanie charakterystycznych zmian mikroskopowych w płucach. Wyniki zostały przedstawione w publikacji oraz podczas konferencji krajowej. Ponadto publikacja została wyróżniona przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych w kategorii doniesienie kazuistyczne w 2017 r.

1. Dolka I.*, Giżejewska A., Giżejewski Z., Kołodziejska-Lesisz J., Kluciński W. Pulmonary adiaspiromycosis in the Eurasian beaver (*Castor fiber*) inhabiting Poland. Polish Journal of Veterinary Sciences. 2017, 20 (3), 615-617. doi: 10.1515/pjvs-2017-0077 (MNiSW₂₀₁₆: 20 pkt., IF₂₀₁₆: 0.697) * autor korespondencyjny

1) Dolka I., Giżejewska A., Giżejewski Z., Kołodziejska J., Dolka B., Kluciński W.: Pulmonary adiaspiromycosis in the Eurasian beaver (*Castor fiber*) inhabiting Poland – a case report study. XV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, „*Per scientiam ad salutem animalium et hominum*”, Wydział Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, 22-24.09.2016, Lublin, Polska.

Jestem również współautorem opisu przypadku zakażenia *Mycobacterium fortuitum* oraz gruczolakoraka kloaki u australorzekotki szmaragdowej, która należy do najpopularniejszych płazów domowych. Ponadto w analizowanym przypadku stwierdzono lipidozę rogówki.

1. Ledwoń A., Dolka I., Dolka B., Życzynski A., Bielecki W. Cloacal adenocarcinoma and mycobacteriosis in a White's Tree Frog – case description. Medycyna Weterynaryjna. 2017, 73(8), 510-512. doi: 10.21521/mw.5727 (MNiSW₂₀₁₆: 15 pkt., IF₂₀₁₆: 0.161)

1) Ledwoń A., Dolka I., Dolka B., Życzyński A. The case of adenocarcinoma and cloacal mycobacteriosis in Green Frog (*Litoria caerulea*). SEH (The Societas Europaea Herpetologica) 18th European Congress of Herpetology, University of Wrocław, 07-12.09.2015, Wrocław, Polska

Od niedawna uczestniczę także w badaniach prowadzonych przez dr n. wet. Annę Pyziel z Katedry Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego SGGW w Warszawie nad występowaniem zakażenia *Dictyocaulus cervi* u jeleni szlachetnych (*Cervus elaphus*) w Polsce. Dotychczas z tego zakresu ukazało się doniesienie konferencyjne:

1) Pyziel A.M., Dolka I., Steiner-Bogdaszewska Ż., Wiśniewski J.: Pathological lesions in lungs of free-roaming red deer *Cervus elaphus* (L.) associated with infection in north-east Poland. The 13th Slovak and Czech Parasitological Days, 21-25.05. 2018, Košice, Słowacja. (doniesienie ustne)

Pozostała aktywność naukowa

5.3 Nagrody i wyróżnienia

1) 2011 r. – II miejsce w konkursie na najlepszą prezentację naukową pt. „Ekspresja białek związanych z procesem apoptozy w nowotworach gruczołu sutkowego suk” podczas sesji poświęconej osiągnięciom pracowników Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie.

2) 2012 r. – Nagroda I Stopnia za rok 2012 przyznana przez Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych za cykl prac dotyczących inwazyjności komórek nowotworowych w gruczole sutkowym suk opublikowanych w BMC Veterinary Research 8:170, 8:35 oraz publikację w Veterinary Research Communications 36, 2012.

3) 2013 r. – Nagroda I Stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w 2013 r. oraz **Zespołową Nagrodą I Stopnia J.M.** Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie za rok 2013 za współautorstwo 2 prac opublikowanych w BMC Veterinary Research wchodzące w skład cyklu oryginalnych publikacji dotyczących onkogenomiki weterynaryjnej.

4) 2015 r. – I miejsce w konkursie na najlepszą prezentację naukową pt. „Opracowanie standardów dobrej praktyki diagnostycznej badania cytologicznego mających znaczenie prognostyczne dla suk z guzami gruczołu sutkowego” podczas sesji poświęconej osiągnięciom naukowym pracowników Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie.

5) 2017 r. – Nagroda II Stopnia za rok 2017 przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych za pracę oryginalną opublikowaną w zespole międzynarodowym w zagranicznym czasopiśmie z listy JCR.

6) 2017 r. – Nagroda I Stopnia za rok 2017 przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych za publikację w kategorii doniesienie kazuistyczne.

7) 2017 r. – Wyróżnienie przyznane przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych za publikację w kategorii doniesienie kazuistyczne w 2017 r.

Wykaz nagrodzonych i wyróżnionych publikacji znajduje się w **Załączniku 3 (II, J)**

5.4 Udział w badaniach wykonywanych w ramach grantów, zadań naukowych

Uczestniczyłam w badaniach naukowych finansowanych przez MNiSW, Narodowe Centrum Nauki, Konsorcjum Naukowe KNOW „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność” Szkołę Główną Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie oraz jeden projekt przez UE (w 3 jako kierownik, w 10 jako wykonawca, w 6 jako pracownik pomocniczy)

1) 2007-2010, N30800632/0667 MNiSW, pt. „Transkryptomiczne, hormonalne i metaboliczne wskaźniki prognostyczne w nowotworach gruczołu sutkowego suk”.

Kierownik tematu: prof. dr hab. Elżbieta Malicka, dr n. wet. Rafał Sapierzyński. Katedra Nauk Klinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie. Grant realizowany przy współpracy z Katedrą Nauk Fizjologicznych. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym jako wykonawca).**

2) 2008-2012, N N308 193735 MNiSW, pt. „Przyczyny zachowań agresywnych u starych psów na podstawie badań w wybranych lecznicach i klinikach weterynaryjnych w Warszawie”. Kierownik tematu: prof. dr hab. Tadeusz Kaleta. Wydział Nauk o Zwierzętach SGGW w Warszawie. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym w charakterze pracownika pomocniczego).**

3) 2009–2012, NN308230536 MNiSW, pt. „Transkryptomocne profile linii komórek nowotworowych gruczołu sutkowego sukki o różnym potencjale proliferacyjnym i antyapoptotycznym”. Kierownik tematu: prof. dr hab. Tomasz Motyl. Katedra Nauk Fizjologicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym jako wykonawca).**

4) 2010-2013, N N308012939 MNiSW, pt. „Molekularne interakcje pomiędzy makrofagami towarzyszącymi nowotworowi a komórkami nowotworowymi guzów sutka suk”. Kierownik tematu: dr n. wet. Magdalena Król. Katedra Nauk Fizjologicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym jako wykonawca).**

5) 2011-2014, N N308 566940, NCN, pt. „Wpływ blokowania receptora progesteronowego na wybrane wskaźniki odporności w fazie porującej u suk”. Kierownik tematu: dr hab. Piotr Jurka, prof. nadzw. Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym w charakterze pracownika pomocniczego).**

6) 2011-2012, 505-10-02370054, zadanie badawcze w ramach wewnętrznego trybu konkursowego dla młodego pracownika nauki, pt. „Rokowanie u suk z guzami gruczołu sutkowego – porównanie oceny cytologicznej, immunocytochemicznej z kooperacyjnym badaniem histopatologicznym i immunohistochemicznym”. Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(jako kierownik i wykonawca).**

7) 2012-2014, IP2011027171, MNiSW, pt. „Określenie roli mieloidalnych komórek supresorowych (MDSC) w przerzutowaniu nowotworów oraz immunosupresji u psów z nowotworami sutka i skóry”. Kierownik tematu: dr n. wet. Magdalena Król. Katedra Nauk Fizjologicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym jako wykonawca).**

8) 2012-2015, 2011/03/B/NZ5/05299, NCN, pt. „Profilowanie ekspresyjne mikroRNA w nowotworach gruczołu sutkowego suk nowym narzędziem w onkologii weterynaryjnej”. Kierownik tematu: dr n. wet. Magdalena Król. Katedra Nauk Fizjologicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym jako wykonawca).**

9) 2013-2016, 2012/07/N/NZ4/02413 NCN, pt. „Wpływ biokompleksów nanocząstek koloidalnego złota w połączeniu z doksorubicyną na rozwój włókniamięśniaków

poszczepiennych kotów - badania *in vitro* oraz *in ovo*". Kierownik tematu: lek. wet. Katarzyna Zabielska. Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym w charakterze pracownika pomocniczego).**

10) 2014-2015, 505-10-023700-L00182-99, zadanie badawcze w ramach wewnętrznego trybu konkursowego dla młodego pracownika nauki, pt. „Opracowanie standardów dobrej praktyki diagnostycznej badania cytologicznego mających znaczenie prognostyczne dla suk z guzami gruczołu sutkowego” Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(jako kierownik i wykonawca).**

11) 2016-2019, 2015/17/D/NZ5/04241 NCN, pt. „Zastosowanie stabilizowanych glutationem nanocząstek złota w połączeniu z doksorubicyną w mięsakach poiniekcyjnych kotów - badania przedkliniczne. Ocena skuteczności i mechanizmu działania biokompleksu, badania proteomiczne guzów”. Kierownik tematu: dr n. wet. Katarzyna Zabielska-Koczywąs. Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym w charakterze pracownika pomocniczego).**

12) 2015-2018, KNOW 2015/CB/PRO1/29, pt. „Ocena efektywności zindywidualizowanej komórkowej terapii celowanej do leczenia przerzutów raka sutka suk na podstawie oznaczeń biomarkerów nowotworowych CA15-3 oraz CEA.” Kierownik tematu: dr hab. Piotr Jurka, prof. nadzw. Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym w charakterze pracownika pomocniczego).**

13) 2015-2018, PBS3/A8/32/2015 (501-04-023700-M00525-09) NCBiR, Synbiotic. pt. „Preparat synbiotyczny do profilaktyki zdrowotnej zwierząt monogastrycznych i zapobiegania wystąpienia chorób bakteryjnych i zatruc wywołanych toksynami oraz poprawiającego bezpieczeństwo żywienia i wydajność chowu zwierząt”. Kierownik tematu: Prof. dr hab. Piotr Szeleszczuk. Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(uczestniczyłam w projekcie badawczym jako wykonawca)**

14) 2017-2018, 2017/01/X/NZ6/00262, NCN, Miniatura 1. działanie naukowe pt. „Ścisła specyficzność żywicielska nicieni płucnych z rodzaju *Dictyocaulus* mitem? Rozważania nad składem gatunkowym, patogennością i występowaniem *Dictyocaulus* spp. w Polsce oraz ryzykiem przeniesienia pasożyty ze zwierząt łownych na hodowlane”. Kierownik tematu: dr n. wet. Anna Maria Pyziel. Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego Polskiej Akademii Nauk **(uczestniczyłam w projekcie badawczym w charakterze pracownika pomocniczego).**

15) 2017-2018, 2017/01/X/NZ5/01430 NCN, Miniatura 1. działanie naukowe pt. „Ocena immunohistochemiczna markerów nowotworów gruczołu sutkowego u suk wykorzystywanych do celów diagnostycznych i rokowniczych”. Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. **(jako kierownik i wykonawca).**

16) W 2012 r. uczestniczyłam **jako wykonawca w projekcie europejskim NADIR** (The Network of Animal Disease Infectiology Research Facilities, project nr FP7-228394) –

Budowa europejskiej sieci badawczej chorób zwierząt. Projekt był finansowany ze środków UE w latach 2009-2013.

5.5 Uczestnictwo w stażach zagranicznych i szkoleniach

Podczas mojej pracy naukowo-badawczej odbyłam krótkoterminowy staż w Veterinärmedizinische Universität (VU-Wien), Department für Pathobiologie, Institut für Pathologie und Gerichtliche Veterinärmedizin w Wiedniu (Austria) w 2007 r oraz staż krótkoterminowy w 2012 r. w National Veterinary Institute, Technical University of Denmark (DTU-Vet) w Lindholm (Dania). Uczestniczyłam w dwutygodniowych szkoleniach z zakresu patologii weterynaryjnej organizowanych w 2015 r w Bolonii (Włochy) oraz w 2016 r. w Berlinie (Niemcy) przez Komitet Szkoleniowy Europejskiego Kolegium Patologów Weterynaryjnych (ECVP) i Europejskiego Towarzystwa Patologów Weterynaryjnych (ESVP).

Ponadto odbyłam 13 szkoleń krajowych z zakresu diagnostyki immunohistochemicznej, metod laboratoryjnych w praktyce patomorfologicznej, hodowli komórek zwierzęcych, patologii nowotworów, diagnostyki cytologicznej nowotworów, histopatologii guzów gruczołu sutkowego suk (wykładowca: Prof. Eva Hellmen, Szwedzki Uniwersytet Nauk Rolniczych, Uppsala, Sweden), systemu zarządzania w laboratorium i jego akredytacją oraz szkolenie zagraniczne (Helsinki, Finlandia) z cytologii nowotworów i chorób układu krwiotwórczego (wykładowca prof. Donald Meuten, USA i prof. Mary Anna Thrall, USA). Szczegółowy wykaz znajduje się w **Zał. 3. (III, L)**.

5.6 Uczestnictwo w konferencjach krajowych i zagranicznych

Ogółem 62 doniesień naukowych (mojego autorstwa lub współautorstwa) było prezentowanych na konferencjach naukowych krajowych (30 doniesień) i międzynarodowych (32 doniesienia). Zostało wygłoszonych 18 referatów. Brałam udział w 12 konferencjach krajowych i 5 konferencjach zagranicznych. Szczegółowa lista znajduje się w **Zał. 3, II, K); Zał 3, III, B)**.

5.7. Zbiorcze zestawienie osiągnięć naukowych

ZBIORCZE ZESTAWIENIE OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

Rodzaj pracy naukowej	Przed uzyskaniem stopnia doktora		Po uzyskaniu stopnia doktora	
Liczba publikacji w czasopismach z listy A MNiSW	2		41	
Liczba publikacji w czasopismach z listy B MNiSW	5		11	
Liczba rozdziałów w monografiach	0		4	
Liczba rozdziałów w podręcznikach, skryptach dla studentów	0		4	
Liczba publikacji popularno-naukowych	5		0	
Prezentacje wyników na konferencjach naukowych	w Polsce	za granicą	w Polsce	za granicą
	4	1	26	31
Parametr	W całym okresie pracy naukowej			
	A* (60 prac)		B* (89 prac)	
Liczba cytowań (bez autocytowań)	136		146	
Liczba cytowań (z autocytowaniami)	156		169	
Indeks Hirscha	7		7	
Sumaryczny współczynnik IF (lista A)**	52.54			
Sumaryczna liczba punktów wg MNiSW (lista A i B)**	1172			

A* - według Web of Science - Core Collection,

B* - według Web of Science - All Databases

** - Impact factor (IF) zgodnie z rokiem publikacji Journal Citation Report (JCR). Bez uwzględniania publikacji w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowej, uwzględnionej w Web of Science.

Publikacje znajdujące się na listach **A lub B** oraz **punkty** według wykazu czasopism naukowych MNiSW **zgodnie z rokiem publikacji**. Dla publikacji z roku 2017 i 2018 uwzględniono dostępne dane z roku 2016.

5.8. Działalność organizacyjna

Członkostwo w towarzystwach naukowych

Europejskie Towarzystwo Patologów Weterynaryjnych (European Society of Veterinary Pathology – ESVP), od 2010 r.

Inna działalność organizacyjna

- Jestem członkiem Komisji Ds. Spraw Rozwoju Kadry Naukowej Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie (kadencja 2017-2020).
- Byłam członkiem Komisji ds. spraw szkoleń i współpracy z samorządem lekarzy weterynarii Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie (kadencja 2013-2016).
- Brałam aktywny udział w tworzeniu Pracowni Immunohistochemii w Katedrze Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, a obecnie jestem odpowiedzialna za tę pracownię.

6. Informacje o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauk

6.1 Działalność dydaktyczna

W ramach pracy dydaktycznej w omawianym okresie prowadziłam zajęcia na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie z przedmiotów:

- **Patomorfologia zwierząt** – dla studentów III i IV roku (ćwiczenia), kierunek weterynaria,
- **Weterynaryjna diagnostyka laboratoryjna (staż z cytopatologii)** – dla studentów V roku, kierunek weterynaria,
- **Animal Pathomorphology** – dla studentów III i IV roku stacjonarnych studiów anglojęzycznych (ćwiczenia),
- **Pathomorphology** – dla studentów z programu Erasmus (ćwiczenia),

Jestem autorem rozdziału w podręczniku dla studentów medycyny weterynaryjnej, jak też dla lekarzy weterynarii. Rozdział 6, pt. „Uszkodzenia nieletalne – uszkodzenia postępujące – zwyrodnienia” s. 113-201, w „Patologia ogólna zwierząt” pod redakcją dr hab. Rafała Sapieryńskiego, prof. nadzw., 2015, Wydawnictwo SGGW, wydanie: I, liczba stron: 480. EAN: 9788375836080, ISBN: 978-83-7583-608-0.

Jestem autorem 3 rozdziałów w skrypcie anglojęzycznym dla studentów medycyny weterynaryjnej studiów anglojęzycznych „Necropsy technique for veterinary students” Pod redakcją lek. wet. Katarzyny Kliczkowskiej-Klarowicz, Wydawnictwo SGGW, 2016. wydanie: I, liczba stron: 47. EAN: 9788375836936, ISBN: 978-83-7583-693-6.

Dolka I. Guidelines for general description of anatomopathological changes. Chapter 2. p. 8 - 10.

Dolka I. Necropsy technique: External examination, Preliminary (general) external examination, Detailed external examination. Chapter 3. p. 12-22.

Dolka I. Necropsy protocol. Chapter 4 p. 45.

6.2 Promotorstwa i recenzje prac

Byłam promotorem pomocniczym pracy doktorskiej lek. wet. Rafała Przeździeckiego pt. „Przydatność badania immunocytochemicznego i cytometrycznego w rozpoznawaniu wybranych nowotworów złośliwych jam ciała i jamy ustnej u psów”. Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Praca została obroniona z wyróżnieniem w 2016 roku.

Przygotowałam recenzje 3 prac licencjackich studentów z Wydziału Rolnictwa i Biologii, SGGW w Warszawie (w 2012 r., 2016 r., 2017 r.) (**Zał. 3., III, J**) oraz 4 recenzje publikacji dla czasopism indeksowanych w Web of Science™ Core Collection Veterinary Pathology (1 manuskrypt w 2014 r.), Histology and Histopathology (1 manuskrypt w 2014 r. oraz 1 manuskrypt w 2017 r.), Research in Veterinary Science (1 manuskrypt w 2016 r.).

6.3 Współpraca naukowa

Badania, w których uczestniczyłam były prowadzone we współpracy z ośrodkami naukowymi w kraju i za granicą, m.in.:

- Instytut Parazytologii im. Witolda Stefańskiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie, Polska,
- Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach, Polska,
- Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, Polska,
- Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego w Warszawie, Polska,
- Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Polska,
- Państwowy Instytut Weterynaryjny Duńskiego Uniwersytetu Technicznego (National Veterinary Institute, Technical University of Denmark DTU-Vet), Dania,
- Wolny Uniwersytet w Berlinie (Freie Universität Berlin), Niemcy,
- Szwedzki Uniwersytet Nauk Rolniczych w Uppsali (Sveriges Lantbruksuniversitet – SLU), Szwecja.

co potwierdzają afiliacje w publikacjach, których jestem współautorem.

6.4 Popularyzacja nauki

Poza działalnością ściśle naukową czynię również działania zmierzające do popularyzacji nauki, w tym rozwijania zainteresowań naukowych studentów. W 2013 roku zostałam opiekunem naukowym Sekcji Patomorfologicznej Weterynaryjnego Koła Naukowego Studentów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. W ramach tej Sekcji przygotowaliśmy 15 prac naukowych prezentowanych w formie posterów lub wystąpień ustnych podczas corocznego Przeglądu Dorobku Kół Naukowych, SGGW w Warszawie oraz Międzynarodowej Konferencji Naukowej Studentów Weterynarii „*Non sibi, sed omnibus – not for themselves, but for everybody*”. Ponadto 4 prace, z moim udziałem jako współopiekun, było przygotowanych w ramach Sekcji awiopatologicznej, a 1 z Sekcji Rozrodu małych zwierząt. Należy dodać, że 7 prac naukowych realizowanych przez studentów pod moją opieką zostało nagrodzonych lub wyróżnionych.

Na polu popularyzacji nauki działałam również poprzez wygłoszenie wykładów:

- dla hodowców gołębi oraz dla lekarzy weterynarii zajmujących się tym gatunkiem podczas Zlotu Kolumbopatologów na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (2014 r.)
- dla uczestników studiów podyplomowych z dziedziny chorób drobiu oraz ptaków ozdobnych na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (2013-2014 r., 2016-2017 r.)
- dla uczestników studiów podyplomowych z dziedziny weterynaryjna diagnostyka laboratoryjna na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (w 2016 r. i 2018 r.).

Popularyzacja nauki przybrała także formę sprawowania opieki nad doktor nauk weterynaryjnych z Połtawskiej Państwowej Akademii Rolniczej (Ukraina), która w okresie 22.04.2014-20.06.2014 r odbywała staż naukowy w Zakładzie Patomorfologii Zwierząt, Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej; jak również formę publikacji popularno-naukowych, m.in. w czasopismach takich jak *Weterynaria w Praktyce*, *Magazyn Weterynaryjny* czy *Polskie Drobiarstwo*.

Inna działalność:

Od początku mojej pracy w Katedrze Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie aktywnie biorę udział w pracach Laboratorium Zakładu Patomorfologii Zwierząt. W ramach tej działalności wykonuję badania

diagnostyczne materiału klinicznego pochodzącego od zwierząt na zlecenie lekarzy weterynarii, właścicieli zwierząt, policji, prokuratury czy sądów oraz przygotowuję opinie lekarsko-weterynaryjne. W latach 2006-2015 r. brałam aktywny udział w pracach Weterynaryjnego Laboratorium Diagnostycznego, Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. W 2015 r. uzyskałam tytuł specjalisty w zakresie weterynaryjnej diagnostyki laboratoryjnej.

Pełny wykaz opublikowanych prac naukowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki znajduje się w **Załączniku 3** do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego.



.....
Podpis