
Dr hab. n. med. Maciej Skrzypczak
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym
II Katedra i Klinika Ginekologii
Ul. Dr K. Jaczewskiego 8
20-954 Lublin

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. wet. Dagmary Gadomskiej pt.: „Badania nad aktywnością przeciwnowotworową suszu z papryczek habanero zawierającego kapsaicynę w warunkach in vitro oraz in vivo u psów.”

Przedłożona mi do recenzji praca doktorska lek. wet. Dagmary Gadomskiej dotyczy ważnego w aspekcie zarówno medycznym jak i społecznym problemu jakim są nowotwory gruczołu sutkowego. Każde badania w zakresie nauk podstawowych dotyczące chorób nowotworowych a w szczególności nowotworów sutka, mogące przyczynić się do powstania skuteczniejszej terapii są niezmiernie wartościowe. Rak sutka jest najczęściej występującym nowotworem u kobiet. W tym kontekście wybór tematu tej dysertacji oceniam jako bardzo trafny. Pracę doktorską lek. wet. Dagmary Gadomskiej stanowi 91-stronicowy manuskrypt o układzie typowym dla tego typu opracowań. Rozprawę doktorską otwiera 11-stronicowy *Wstęp* będący bardzo obszernym opracowaniem poglądowym problemów będących przedmiotem tego zamierzenia badawczego. Przedstawiono w nim historię pozyskiwania kapsaicyny jej naturę chemiczną oraz właściwości tego alkaloidu w ujęciu zarówno medycyny człowieka, jak i medycyny weterynaryjnej. Szczególnie wysoko oceniam te fragmenty *Wstępu*, które dotyczą różnych mechanizmów działania kapsaicyny w terapii procesów nowotworowych.

Założenia i cel pracy zostały przedstawione w sposób jasny. Celem badań była:

1. Ocena skuteczności przeciwnowotworowej suszu z papryczek habanero zawierającego kapsaicynę w stosunku do dwóch linii nowotworów psów DAN (fibroblasty izolowane z kostniakomięsaka) i D 17 (komórki epitelialne kostniakomięsaka pobrane z guzów przerzutowych z płuc) w warunkach in vitro w oparciu o wyniki testu MTT (ocena cytotoksyczności i wpływu na proliferację komórek nowotworowych) oraz wyniki cytometrii przepływowej (ocena żywotności komórek).
2. Ocena skuteczności przeciwnowotworowej suszu z papryczek habanero zawierającego kapsaicynę w stosunku do nowotworów gruczołu sutkowego u psów w warunkach in vivo.
3. Określenie tolerancji psów na doustne podawanie suszu z papryczek habanero zawierającego kapsaicynę.

Do realizacji celu pracy użyto moim zdaniem właściwych narzędzi badawczych scharakteryzowanych w rozdziale *Materiał i metody*. Doktorantka przeprowadziła analizy przy użyciu technik chromatograficznych HPLC, hodowli komórkowych, cytometrii przepływowej, aż wreszcie przeprowadziła szerokie badania kliniczne na czterech grupach psów uwzględniające badanie stanu ogólnego zwierząt, badanie hematologiczne, biochemiczne krwi oraz badanie histopatologiczne guzów. Nieco zbyt szczegółowo przedstawiła opis badania żywotności i proliferacji komórek nowotworowych z wykorzystaniem testu MTT oraz badania żywotności komórek nowotworowych z wykorzystaniem cytometrii przepływowej (barwienie PI) (podrozdziały 2.2.1-2.2.3). Na ich tle metodyka badania chromatograficznego wydaje się nieco ubogą. Podobnie analizy statystyczne. Aczkolwiek metody obliczeń statystycznych zostały dobrane prawidłowo, mogłyby być bardziej rozbudowane, co znacznie ułatwiłoby interpretację uzyskanych wyników.

Rozdział *Wyniki badań* zawiera 14 rycin i 12 tabel, których zawartość i przejrzystość nie budzą moich zastrzeżeń. W tym miejscu należy podkreślić, iż Doktorantka wykonała żmudną pracę zbierając i analizując mnogość danych uzyskanych zwłaszcza w części klinicznej doktoratu. Pomimo dużej ilości analizowanych parametrów rozdział ten w sposób czytelny prezentuje rezultaty badań. Przedstawione w nim informacje pozwalają potwierdzić skuteczność przeciwnowotworową suszu z papryczek habanero zarówno w warunkach in vitro, jak i in vivo. Słabą stroną tej części pracy jest zbyt prosta analiza statystyczna wyników (co zazaczyłem już we wcześniejszej części recenzji) oraz zbyt uboga dokumentacja fotograficzna guzów stwierdzanych u psów użytych w badaniach

Uzyskane wyniki Doktorantka poddaje w kolejnym rozdziale swojej rozprawy doktorskiej dyskusji w szerokim kontekście literatury przedmiotu. Jest to moim zdaniem rozdział zasługujący na szczególnie wysoką ocenę i dowodzi dojrzałości Doktorantki jako badacza, która przejawia się zdolnością do krytycznego odniesienia się do wyników badań własnych. Doktorantka nieco więcej miejsca mogła poświęcić na prezentację działania innych zawartych w papryczce habanero poza kapsaicyną kapsaicynoidów.

Pracę kończy sformułowanie sześciu wniosków, które są uzasadnione uzyskanymi wynikami. Lek. wet. Dagmara Gadomska wykazała, że

1. cytotoksyczność ekstraktu z suszu z papryczek habanero oraz hamowanie proliferacji komórek nowotworowych DAN i (fibroblasty izolowane z kostniakomięsaka) i D 17 (komórki epitelialne kostniakomięsaka pobrane z guzów przerzutowych z płuc) w warunkach *in vitro* przewyższają cytotoksyczność oraz zdolność hamowania proliferacji komórek nowotworowych jakie wykazuje czysta kapsaicyna. Takie działanie może być podyktowane tym, że susz z papryczek habanero, obok samej kapsaicyny zawiera także inne kapsanoidy, które mogą nasilać działanie przeciwnowotworowe czystej kapsaicyny
2. preparat oparty na suszu z papryczek habanero, zawierający kapsaicynę jest na ogół dobrze tolerowany przez zwierzęta. Objawy niepożądane (biegunki, wymioty, wylizywanie odbytu), o ile wystąpią są przemijające i nie wpływają na kondycję zwierząt. Może on obciążać wątrobę, której funkcja powinna być monitorowana w czasie stosowania preparatu.
3. Preparat oparty na suszu z papryczek habanero wykazuje aktywność przeciwnowotworową w stosunku do guzów gruczołu sutkowego u suk, indukując, bądź resorpcję guzów, lub hamując dalsze ich powiększanie w związku z czym powinien być rozważony jako element wspomagający, lub alternatywa dla tradycyjnej chemioterapii, bądź radioterapii tego typu nowotworów.
4. Najslabszą skuteczność preparat oparty na suszu z papryczek habanero wykazuje w stosunku do guzów o najwyższym stopniu złośliwości tj. raków złożonych G2, gruczolakoraka oraz mastocytozy, w związku z czym, jeżeli ma on być stosowany u zwierząt z tego typu nowotworami, powinien stanowić uzupełnienie chemioterapii, lub innych metod leczenia onkologicznego.

Doktorantka zacytowała w tej dysertacji 81 pozycji piśmiennictwa, których dobór oraz styl prezentacji danych bibliograficznych nie budzą moich zastrzeżeń. Zarówno streszczenie polsko- jak i anglojęzyczne w przydatny sposób uzupełniają ten manuskrypt. Reasumując stwierdzam, że przedstawione w pracy zagadnienia stanowią ważne

uzupełnienie dotychczasowej wiedzy dotyczącej alternatywnych metod terapii przeciwnowotworowej. Uzyskane wyniki są w mojej ocenie wartościowe zwłaszcza z uwagi na fakt, iż jest to pierwsze tego typu opracowanie w medycynie weterynaryjnej w Polsce. Praca zawiera elementy nowatorskie, została wykonana metodycznie poprawnie, a wyniki badań mają duże znaczenie poznawcze.

Przedstawione w recenzji uwagi mają w większości charakter porządkowy i nie wpływają na pozytywną ocenę recenzowanej rozprawy. Doktorant włożył wiele pracy w wykonanie trudnych metodycznie badań, wywiązując się w pełni z zadań określonych w celach badawczych.

W podsumowaniu oceny rozprawy doktorskiej lek. wet. Dagmary Gadomskiej pt.: „Badania nad aktywnością przeciwnowotworową suszu z papryczek habanero zawierającego kapsaicynę w warunkach in vitro oraz in vivo u psów.” stwierdzam, iż przedłożona mi do recenzji dysertacja jest efektem realizacji ciekawego i bardzo wartościowego zamierzenia badawczego, którego wyniki uzupełniają obecny stan wiedzy na temat możliwości zastosowania w terapii wspomagającej suszu z papryczek habanero w nowotworach sutka. **spełnia stawiane warunki rozprawom doktorskim** określone w *Ustawie z dn 14.marca 2013r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz. U. Nr 65 z 2003r., poz.595 ze zm Dz. U. z 2005r., nr. 164 poz.1365) Mam przeto zaszczyt zwrócić się do Wysokiej Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z wnioskiem o dopuszczenie lek. wet. Dagmary Gadomskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. MACIEJ SKRZYPCZAK
specjalista ginekolog-położnik
tel. 601 25 32 11
6733700