



RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Moniki Kłozy

„Wpływ nadciśnienia oraz przewlekłego podania inhibitora FAAH URB597 na zależną od śródbłonna hiperpolaryzację i rozkurcz małych tętnic krezkowych szczura”

Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi uchwała Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 26.02.2020 r. oraz pismo Dziekana Kolegium Nauk Farmaceutycznych z dnia 04.03.2020 r.

Praca doktorska mgr Moniki Kłozy dotyczy problemu powikłań nadciśnienia tętniczego, a konkretnie jego wpływu na napięcie ściany naczyń oporowych (małe naczynia) będące pochodną hiperpolaryzacji zależnej od śródbłonna (EDH). Nadciśnienie tętnicze stanowi bardzo istotny problem kliniczny i epidemiologiczny – według badania NATPOL 2011 na nadciśnienie tętnicze choruje aż 32% (ok. 10,5 mln) dorosłych Polaków. Z jednej strony współczesne armamentarium szeroko dostępnych i powszechnie stosowanych leków hipotensyjnych, do których należą m.in. inhibitory konwertazy angiotensyny, β -adrenolityki, antagoniści kanałów wapniowych i diuretyki pozwalają na uzyskanie zadowalającej kontroli ciśnienia tętniczego u większości pacjentów, z drugiej strony liczne problemy naukowe i kliniczne związane z nadciśnieniem tętniczym pozostają w dalszym ciągu nierozwiązane. Przede wszystkim nie są znane szlaki komórkowe i interakcje międzykomórkowe kluczowe w patogenezie nadciśnienia tętniczego, szczególnie na początkowych etapach. Nasza wiedza o szlakach posiadających potencjalną zdolność do przywracania równowagi i niwelowania nadciśnienia tętniczego również pozostaje fragmentaryczna. Praca doktorska mgr Moniki Kłozy podejmuje próbę uzupełnienia wiedzy o potencjalnym szlaku stabilizującym ciśnienie tętnicze, jakim jest hiperpolaryzacja zależna od śródbłonna (EDH – endothelium-dependent hyperpolarization), co stanowi niewątpliwą wartość rozprawy. Klasyczną drogę działania EDH stanowi aktywacja śródbłonkowych kanałów potasowych zależnych od jonów wapnia o małym (KCa2.3) i średnim przewodnictwie (KCa3.1), m. in. pod wpływem acetylocholiny uwalnianej w odpowiedzi na wzrost ciśnienia tętniczego krwi. Prowadzi to do hiperpolaryzacji śródbłonna, a następnie przeniesienia tej reakcji na miocyty w efekcie doprowadzając poprzez specjalne złącza mioendotelialne zwane MEGJ, do rozkurczu naczynia.

W nadciśnieniu tętniczym dochodzi do dysfunkcji śródbłonna, co skutkuje upośledzeniem funkcji skurczowo-rozkurczowej naczyń, w szczególności małych tętniczek o funkcji oporowej. Wyniki badań wskazują, że w toku rozwoju nadciśnienia tętniczego EDH, w zależności od typu łożyska oraz rodzaju modelu doświadczalnego może zmniejszać się, pozostawać na stałym poziomie, a nawet ulegać wzmocnieniu. Sugeruje się, że jednym z układów regulujących napięcie ściany naczyniowej za pomocą EDH jest układ endokannabinoidów (ECS), w tym anandamid i/lub jego metabolity powstałe w wyniku rozkładu przez hydrolazę amidu kwasu tłuszczowego (FAAH). Istnieją dane wskazujące na udział ECS także w patogenezie nadciśnienia tętniczego. W swojej pracy doktorskiej mgr Monika Kloza badała wpływ pierwotnego (szczury SHR) i wtórnego nadciśnienia tętniczego (szczury DOCA-salt) na odpowiedź rozkurczową zależną od kanałów potasowych w izolowanych tętnicach krezkowych G3, z uwzględnieniem wpływu przewlekłej blokady ESC u szczurów DOCA-salt. Uważam, że tematyka podjęta w pracy doktorskiej jest bardzo istotna i dobrze wpisuje się w aktualne zainteresowania badawcze.

Rozprawa doktorska mgr Moniki Klozy ma układ typowy dla prac doktorskich przedstawianych w formie cyklu publikacji i obejmuje: *spis treści, wprowadzenie, cel pracy, realizację celów naukowych, wnioski, piśmiennictwo, kopie opublikowanych prac, streszczenie w języku polskim i angielskim, uchwałę Lokalnej Komisji Etycznej oraz oświadczenia autora i współautorów rozprawy doktorskiej.*

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska opiera się na spójnym tematycznie cyklu 3 prac opublikowanych w renomowanych czasopismach zagranicznych o wysokim współczynniku oddziaływania (łącznie IF 8,85). Wszystkie publikacje to opracowania zbiorowe, w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Udział Doktorantki w przygotowaniu wszystkich publikacji został potwierdzony stosownymi oświadczeniami współautorów. Na podstawie oświadczenia o merytorycznym wkładzie Doktorantki w powstanie przedstawionych prac można stwierdzić, że jej udział był znaczący.

We wprowadzeniu Autorka podała definicję i podział nadciśnienia tętniczego - patologii stanowiącej przedmiot jej badań. Następnie krótko opisała podstawowe zwierzęce modele nadciśnienia tętniczego, a także główne funkcje śródbłonna. W sposób szczególny zwróciła uwagę na hiperpolaryzację oraz rolę kanałów potasowych i ich aktywatorów w tym zjawisku. We włączonej do cyklu pracy pogładowej pt. *„Rola kanałów potasowych aktywowanych przez jony wapnia o małej i średniej przewodności w zależnej od śródbłonna hiperpolaryzacji naczyń krwionośnych w fizjologii i nadciśnieniu tętniczym”* opublikowanej w Postęпах Hig Med Dośw. (IF 1.06) Doktorantka wyjaśniła rolę śródbłonna w regulacji napięcia ścian naczyń krwionośnych, zwracając szczególną uwagę na zjawisko hiperpolaryzacji zależnej od śródbłonna (EDH), mogącej stanowić kompensacyjny mechanizm w warunkach zmniejszonej biodostępności tlenu azotu (NO), m. in. w nadciśnieniu tętniczym. W publikacji opisano także potencjalne możliwości farmakologicznej regulacji

kanałów potasowych aktywowanych przez jony wapnia o małej (KCa2.3) i średniej (KCa3.1) przewodności, z uwzględnieniem odpowiedzi zależnej od EDH w nadciśnieniu tętniczym.

W kolejnej części rozprawy Doktorantka opisała celowość swoich badań, ze szczególnym zwróceniem uwagi na potencjalny cel terapeutyczny aktywatorów endotelialnych kanałów potasowych oraz endokannabinoidów jako związków o szerokim profilu bezpieczeństwa, które wykazują wielokierunkowe zależne od śródbłonna działanie wazodylatacyjne.

Doktorantka w swoich pracach postawiła dwa podstawowe cele badawcze:

1. Wpływ pierwotnego (SHR) i wtórnego (DOCA-salt) nadciśnienia tętniczego na odpowiedź rozkurczową zależną od Kca2.3/Kca3.1-EDH, w tym działanie aktywatorów kanałów potasowych KCa2.3/KCa3.1 - NS309 i/lub SKA-31 (Vascul Pharmacol.).
2. Wpływ chronicznego podawania inhibitora FAAH URB597 na odpowiedź rozkurczową zależną od KCa2.3/KCa3.1-EDH w modelu nadciśnienia wtórnego DOCA-salt (Int J Mol Sci.).

Postawione cele zostały w pełni zrealizowane w opublikowanych pracach wchodzących w skład przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej.

W pierwszej pracy doświadczalnej, pt. „The influence of DOCA-salt hypertension and chronic administration of the FAAH inhibitor URB597 on KCa2.3/KCa3.1-EDH-type relaxation in rat small mesenteric arteries” opublikowanej w Vascul Pharmacol. (IF 3,607) Doktorantka zaobserwowała podobny poziom relaksacji zależnej od EDH zarówno u zwierząt z wtórnym nadciśnieniem tętniczym, jak i u ich normotensyjnych odpowiedników. Zablokowanie kanałów KCa2.3 i/lub KCa3.1 przez UCL1648 i TRAM-34 spowodowało zmniejszenie rozkurczu zależnego od EDH u wszystkich badanych zwierząt. Przewlekłe podanie URB597 (inhibitor FAAH) nie wpływało na zmianę relaksacji zależnej od EDH w tętnicach krezkowych G3, także z udziałem KCa2.3 i/lub KCa3.1 mimo kompensacyjnego wzrostu ekspresji kanałów potasowych Kca3.1 u szczurów DOCA-salt, co jak sugeruje sama Doktorantka może być wynikiem zaawansowanego stopnia nadciśnienia tętniczego u tych zwierząt.

W kolejnej pracy doświadczalnej z cyklu prac pt. „Modulation of cardiovascular function in primary hypertension in rat by SKA-31, an activator of KCa2.x and KCa3.1 channels”, opublikowanej w Int J Mol Sci. (IF 4,183) Doktorantka zaobserwowała krótkotrwały spadek ciśnienia tętniczego oraz bradykardię po przewlekłym podaniu SKA-31 (aktywatora kanałów potasowych) u szczurów SHR. Podanie SKA-31 powodowało relaksację izolowanych naczyń krezkowych wstępnie skurczonych za pomocą fenylefryny, natomiast podanie SKA-31 wspólnie z acetylocholiną potęgowało tę reakcję.

W krótkim podrozdziale: *Realizacja celów naukowych* Doktorantka przedstawiła w syntetyczny sposób materiał użyty w dysertacji, omówiła najważniejsze otrzymane wyniki, a także opisała potencjał i ograniczenia pracy.

Rozprawę kończy zwięzłe podsumowanie oraz siedem w pełni uzasadnionych wniosków z przeprowadzonych badań. Zgadzam się z Doktorantką, że „Wyniki badań poszerzają dotychczasową wiedzę o odpowiedzi Kca2.3/Kca3.1- EDH oraz działaniu aktywatorów kanałów potasowych KCa2.3/KCa3.1 (SKA-31, NS309) w modelu nadciśnienia pierwotnego (SHR) i wtórnego (DOCA-salt).”

W mojej ocenie interesujące dla dalszego rozwoju wiedzy byłoby zbadanie roli aktywatorów KCa2.3/KCa3.1- EDH w innych łożyskach naczyniowych i modelach zwierzęcych, co zapewne pogłębiłoby wiedzę na temat dysfunkcji śródbłonna w wielu jednostkach chorobowych, w tym nadciśnieniu tętniczym.

W nawiązaniu do powyższego nasuwają się dwa pytania, na które chciałabym uzyskać odpowiedź od Doktorantki:

1. Proszę o wyjaśnienie powodu wyboru trzewnego łożyska naczyniowego do badań będących przedmiotem pracy doktorskiej?
2. Proszę o podanie jednostek chorobowych, w których Doktorantka widziałaby potencjał do zastosowania badanych aktywatorów kanałów potasowych?

Po zapoznaniu się z otrzymaną dokumentacją uważam, że praca doktorska mgr Moniki Kłozy stanowi samodzielne rozwiązanie problemu naukowego, a uzyskane nowatorskie wyniki posiadają praktyczny charakter (wskazanie na potencjalne możliwości terapeutyczne aktywatorów Kca2.3/Kca3.1- EDH w chorobach z dysfunkcją śródbłonna). Chciałabym również podkreślić widoczny wkład pracy Doktorantki w przeprowadzenie badań doświadczalnych na małych zwierzętach oraz analizę otrzymanych wyników. Stwierdzam zatem, że przedstawiona rozprawa doktorska, będąca spójnym tematycznie cyklem trzech publikacji, pod wspólnym tytułem „Wpływ nadciśnienia oraz przewlekłego podania inhibitora FAAH URB597 na zależną od śródbłonna hiperpolaryzację i rozkurcz małych tętnic krezkowych szczura” w pełni odpowiada warunkom określonym w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami) i rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 26 września 2016 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2016 poz. 1586). Wnioskuje zatem o dopuszczenie mgr Moniki Kłozy do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę aktualną tematykę i wysoki poziom badań przedstawionych w dysertacji, wnoszę o wyróżnienie ocenianej pracy doktorskiej.

Warszawa, 5 maja 2020 r.

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska



