

Białystok, 15.05.2019

Prof. dr hab. med. Włodzimierz Buczek  
ul. Akademicka 6 m 8  
15-267 Białystok

### **Recenzja**

#### **rozprawy doktorskiej pt. „Ocena profilu eikozanoidów w zwierzęcych modelach dysfunkcji śródbłonna naczyniowego” mgr Agnieszki Kij**

**Promotor: Dr hab. Maria Walczak**

W następnym roku minie 90 lat kiedy to dwóch ginekologów amerykańskich Kurzok i Lieb zaobserwowali, że fragmenty mięśnia macicy kurczą się lub rozkurczają pod wpływem nasienia. Obserwację tę potwierdził później von Euler, a ponadto wykazał, że aktywną substancją w spermie jest kwas rozpuszczalny w lipidach, nazwał go prostaglandyna. W 1962 roku Samuelsson i Bergstrom wyjaśnili strukturę PGE<sub>1</sub> i PGF<sub>1α</sub>, a 2 lata później Ci sami autorzy dokonali syntezy PGE<sub>2</sub> z kwasu arachidonowego. Następnie w 1976 roku na Europejskim Zjeździe Farmakologicznym Samuelsson i Bergstrom przedstawili wyniki wskazujące na obecność tromboksanu A<sub>2</sub> w płytkach krwi i określili ich rolę w hemostazie. To odkrycie stało się inspiracją do wykrycia produkowanej przez śródbłonek prostacykliny. Nieco wcześniej bo w 1971 Vane i współpracownicy wykazali, że mechanizm działania aspiryny i innych NLPZ-ów polega na hamowaniu syntezy prostaglandyn (PG). W tym miejscu należy wymienić dwóch polskich uczonych prof. Ryszarda Gryglewskiego i prof. Andrzeja Szczeklika, którzy w dużym stopniu współpracując z prof. Vane przyczynili się do tych odkryć. Z uwagi na właściwości PG stało się jasne, że odkrycia te otwierają drogę do poznania funkcji komórek i narządów, dotąd nieznanych, zwłaszcza w chorobie. W roku 1982 Samuelsson, Bergstrom i Vane uzyskują nagrodę Nobla za badania nad PG<sub>s</sub>. Po wielu latach okazało się, że metabolitów kwasu arachidonowego jest wiele, posiadają one różnokierunkowe działania oraz działają na różne komórki i narządy różnie u ludzi, zwierząt i ptaków.

Nie dziwi więc że mgr Agnieszka Kij podjęła się po pierwsze opracować oraz dokonać walidacji metod bioanalitycznych do oznaczenia panelu eikozanoidów w próbkach biologicznych, w różnych metabolicznych szlakach zarówno enzymatycznych jak i nieenzymatycznych, a po drugie ocenić zachowanie się wybranych przekazywaczy powstałych na szlakach metabolizmu kwasu arachidonowego u myszy z niedoborem NO, nadciśnieniem tętniczym oraz u zwierząt z przerzutowym rakiem sutka. Można domniemywać, że doktorantka

podjęła próbę usystematyzowania dotychczasowej wiedzy, przy zastosowaniu nowoczesnych metod analitycznych, na temat zachowania poszczególnych metabolitów kwasu arachidonowego w różnych modelach doświadczalnych, które łączy niewydolność śródbłonka. Praca posiada układ typowy. Wstęp poprzedzają dwustronicowe streszczenia w języku polskim i angielskim. W 13stronicowym wstępie mgr A. Kij dokonuje charakterystyki śródbłonka naczyńniowego w stanach fizjologicznych i patologicznych, następnie szczegółowo przedstawia metabolizm eikozanoidów, ich działanie biologiczne oraz zastosowanie. Tę część pracy kończy rozdział nt. technik analitycznych stosowanych do oznaczania prekursorów lipidowych. W tym miejscu należy podkreślić, że ta część pracy została przygotowana wyjątkowo starannie, z podaniem wielu szczegółów i to, że poszczególne jej fragmenty kończyły się czterema bardzo przejrzystymi tabelami, co wskazuje na dogłębną znajomość przez doktorantkę tematyki badawczej którą realizuje. Cel pracy został przedstawiony w sposób jasny, logicznie wynikający z dotychczasowych danych, wskazując na nieznaną dotychczas rolę niektórych eikozanoidów w niewydolności śródbłonka. Materiał i metody opisano wzorowo, w sposób wyjątkowo drobiazgowy pozwalający w każdej chwili odtworzyć i powtórzyć prowadzone badania. Ta część pracy zawarta na 45 stronach wydruku zakończona jest podsumowaniem wyników walidacji stosowanych metod bioanalitycznych. Wyniki badań na zwierzętach opisano na 40 stronach przedstawiając je na 32 rycinach w sposób zwięzły i przejrzysty. Każdy fragment badań na poszczególnym modelu zwierzęcym tj. z niedoborem NO, nadciśnieniem i z rakiem sutka był na końcu podsumowywany. Doktorantka wykazała, że zastosowanie przez nią systemu analitycznego UPLC-MS/MS pozwala na jednoczesne oznaczanie metabolitów PGI<sub>2</sub> i TXA<sub>2</sub> w osoczu i moczu myszy, a także innych eikozanoidów w różnych, wymienianych wcześniej szlakach metabolizmu kwasu arachidonowego, w osoczu i płucach. Okazało się że profil badanych eikozanoidów w badanym materiale był różny w zależności od zastosowanego modelu, a zastosowana farmakologiczna modulacja czynności śródbłonka także prowadziła do zmniejszenia lub zwiększenia (zależnie od modelu) aktywności badanych szlaków czy enzymów.

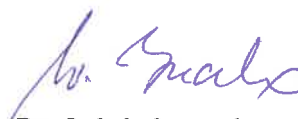
W dyskusji wyniki badań na 19 stronach skonfrontowano z dotychczasowymi danymi literaturowymi. Ta część dyzertacji świadczy o tym, że doktorantka posiada umiejętność krytycznej analizy badań własnych z literaturą.

Pracę kończą cztery właściwie sformułowane wnioski, 161 właściwie dobranych pozycji literaturowych, spis rycin (36) i tabel (15) oraz wykaz skrótów.

Podsumowując dyzertację oceniam bardzo wysoko. Autorka wykonała z benedyktyńską dokładnością ogromną pracę, wymagającą czasu, cierpliwości i znajomości tematyki

badawczej. Wyniki, które mgr A. Kij uzyskała pozwalają sądzić, że opracowane metody pozwalają na dokładną ocenę stężenia różnych eikozanoidów w różnych tkankach w warunkach in vitro i ex vivo, a badane związki i szlaki zachowujące się różnie w różnych stanach patologicznych można modyfikować farmakologicznie. Wyniki tych badań znacznie poszerzają naszą wiedzę na temat metabolizmu kwasu arachidonowego oraz dają nadzieję na możliwości syntezy i zastosowania terapeutycznego związków, które mogłyby korygować zaburzone szlaki tego kwasu w niektórych stanach patologicznych. Praca spełnia wszystkie wymogi Ustawy o stopniach i tytułach naukowych (Art. 13, ust. 1 z dnia 14.03.2003).

Biorąc powyższe pod uwagę zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Agnieszki Kij do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. med.  
Włodzimierz Buczko