Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

Kraków, 14.07.2023r.

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr Joanny Knutelskiej zatytułowanej „Ocena aktywności nowych pochodnych 5,5-dimetylohydantoiny w układzie sercowo-naczyniowym"
przygotowanej pod opieką naukową dr hab. Małgorzaty Zygmunt
w Zakładzie Wstępnych Badań Farmakologicznych Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Przedłożona mi do oceny praca doktorska mgr Joanny Knutelskiej zatytułowana „Ocena aktywności nowych pochodnych 5,5-dimetylohydantoiny w układzie sercowo-naczyniowym" ma klasyczny układ monografii. Na 244 stronach doktorantka zawarła: wykaz skrótów, wstęp, cel pracy, wzory i nazwy chemiczne oraz symbole badanych związków, materiały i odczynniki, metodykę, opis uzyskanych wyników potwierdzonych 28 tabelami oraz 47 rycinami, dyskusję, wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz bardzo obszerną bibliografię (zawierającą aż 483 pozycje).
Przedmiotem badań Doktorantki było 12 pochodnych hydantoiny (MG-15, OJ-1, OJ-2, OJ-3, OJ-4, OJ-5, OJ-6, OJ-7, OJ-8, PY-1, PY-10 oraz PY-11). Badania farmakologiczne zostały przeprowadzone w dwóch etapach. W pierwszym etapie wykonano badania przesiewowe, w ramach których oznaczono powinowactwo wszystkich pochodnych 5,5-dimetolohydantoiny do receptorów α1- i β1-adrenergicznych oraz aktywność wewnętrzną względem trzech podtypów receptora adrenergicznego: α1A, α1B, α1D metodą ni vitro, a także zweryfikowano wpływ badanych związków na ciśnienie tętnicze krwi, na prawidłowy elektrokardiogram szczura oraz zbadano ich profilaktyczną aktywność przeciwarytmiczną. Następnie na podstawie uzyskanych wyników wybrano 4 pochodne 5,5-dimetylohydantoiny (MG-15, OJ-2, PY-1, PY-10), które wykazywały najkorzystniejszy profil działania, do dalszych poszerzonych badań. W ramach tych eksperymentów zbadano między innymi: przepuszczalność przez błonę komórkową, aktywność przeciwarytmiczną w zaburzeniach rytmu serca wywołanych okluzją i reperfuzją naczynia wieńcowego, działanie antyagregacyjne, aktywność hipotensyjną w modelu deksametazonowym, wpływ badanych związków na profil węglowodanowy oraz lipidowy.
Tematyka podjęta przez doktorantkę w niniejszej dysertacji jest bardzo ważna społecznie i niezwykle aktualna ze względu na fakt, że choroby układu sercowo-naczyniowego stanowią obecnie najczęstszą przyczynę śmierci w skali globalnej. A na przestrzeni ostatniej dekady zaobserwowano wyraźny wzrost liczby zachorowań na schorzenia układu sercowo-naczyniowego. Obecnie terapia nadciśnienia tętniczego obejmuje modyfikację stylu życia oraz leczenie

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.krakow.pl
www.if-pan.krakow.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49
fax: +48 12 637 45 00

farmakologiczne. W leczeniu farmakologicznym nadciśnienia tętniczego stosuje się leki z pięciu podstawowych klas: diuretyki tiazydowe i tiazydopodobne, antagoniści receptorów β-adrenergicznych, antagoniści kanałów wapniowych, inhibitory konwertazy angiotensyny oraz antagoniści receptora typu 1 dla angiotensyny II. Ponieważ stosowana obecnie farmakoterapia nie zawsze jest skuteczna, a także wywołuje efekty niepożądane dlatego uzasadnione jest poszukiwanie nowych, skuteczniejszych i bezpiecznych leków do terapii schorzeń układu sercowo-naczyniowego. We wstępie mgr Joanna Knutelska zawarła szeroki i dokładnie przeanalizowany przegląd danych literaturowych oraz aktualny stan wiedzy dotyczący epidemiologii chorób układu sercowo-naczyniowego, czynników i kategorii ryzyka sercowo-naczyniowego, skuteczności leczenia farmakologicznego w redukowaniu poważnych zdarzeń niepożądanych, terapii nadciśnienia tętniczego, wpływu cukrzycy i dyslipidemii na choroby sercowo-naczyniowe oraz roli receptorów α1-adrenergicznych i ich antagonistów w terapii schorzeń układu sercowo-naczyniowego.

Cel pracy został sformułowany poprawnie i dotyczy oceny aktywności α1-adrenolitycznej 12-tu nowo zsyntezowanych pochodnych 5,5-dimetylohydantoiny ze szczególnym uwzględnieniem działania biologicznego w obrębie układu krążenia oraz wyselekcjonowania struktur o najwyższym potencjale terapeutycznym.

Materiały i zastosowane metody badań zostały opisane niezwykle precyzyjnie i bardzo szczegółowo, a przedstawienie grup doświadczalnych w tabeli (nr.6) oraz schematu podań leków (rycina 7) jasno prezentują planowany schemat badań. Na wykonanie badań in vivo na zwierzętach uzyskano odpowiednie zgody I Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Krakowie.

Wyniki badań zostały opisane na 69 stronach oraz udokumentowane w formie 28 tabel oraz 47 rycin.

Do tej części dysertacji mam kilka uwag:

1. Doktorantka używa sformułowania kontrola negatywna (zwierzęta „zdrowe", które otrzymywały sól fizjologiczną) i kontrola pozytywna (zwierzęta, które otrzymywały związek modelujący objawy chorobowe). Standardowo wszystkie grupy eksperymentalne powinny być porównywane do grupy solnej, widzimy wtedy czy substancja modelująca wywołuje znamienny efekt oraz czy traktowanie nowymi/badanymi związkami odwraca te niekorzystne działania przywracając badane parametry do poziomu kontrolnego (czyli grupy solnej). Doktorantka potraktowała grupę kontroli pozytywnej jako 100%, i wszystkie pozostałe grupy (w tym grupa solna) są przeliczane do niej. W efekcie czytelnik ma wrażenie, że traktowanie solą fizjologiczną wywołuje niekorzystne efekty. W mojej opinii grupa „kontrola negatywna" powinna być zawsze odnośnikiem dla wszystkich pozostałych grup czyli jej wartość powinna być 100%. Proszę o komentarz.
2. Na rycinach 14 -27 oraz 29 i 30 brakuje zarówno słupków błędów jak i znamienności.
3. W opisach wyników brakuje podania wartości „p".
4. W tabelach oraz opisach brakuje wartości „F".

Dyskusja zajmuje 29 stron i jest przeprowadzona kompetentnie w oparciu o uzyskane wyniki. Bardzo szczegółowo omówione zostały wszystkie główne obserwacje poczynione przez Doktorantkę w kontekście opublikowanych danych literaturowych. W tej części rozprawy mgr Joanna Knutelska

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.krakow.pl
www.if-pan.krakow.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49
fax: +48 12 637 45 00

omawia efekty biologiczne nowo zsyntezowanych pochodnych 5,5-dimetylohydantoiny szeregując ich siłę działania od najmocniejszych do najsłabszych, jednocześnie porównując efekty do wybranych związków referencyjnych. Dzięki temu czytelnik może z łatwością porównać profil działania poszczególnych związków. Podsumowując Doktorantka dokonuje oceny profilu związku MG-15, który wykazał najkorzystniejsze działanie krążeniowe (najwyższą skuteczność hipotensyjną i przeciwarytmiczną) oraz prezentował dodatkowe korzyści: działanie hipoglikemizujące, hipolipemizujące, antyoksydacyjne oraz antyagregacyjne. Sposób prowadzenia dyskusji wskazuje na zdolność krytycznego podejścia Autorki niniejszej pracy do własnych wyników. Ta część pracy doktorskiej świadczy o wiedzy merytorycznej Doktorantki, jej zdolnościach analitycznych oraz umiejętności przejrzystego przedstawiania swoich przemyśleń.

Do tej części monografii mam 2 drobne uwagi/sugestie:

1. Uważam, że obszerny fragment dyskusji dotyczący historii i syntezy hydantoiny oraz jej pochodnych (strony 164 - 167) powinien się znaleźć raczej we wstępie niniejszej pracy. Dyskusja powinna zawierać omówienie uzyskanych wyników oraz porównanie ich z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy i dostępnymi w literaturze.
2. Również w dyskusji znajduje się fragment opisujący bardzo szczegółowo szczep szczurów SHR (strona 188). Sądzę, że te informacje mogłyby być pominięte, ponieważ Doktorantka nie stosowała tego szczepu szczurów w swoich badaniach.

Na zakończenie dysertacji Doktorantka sformułowała aż 20 wniosków, które stanowią odzwierciedlenie i jasne podsumowanie uzyskanych wyników.

Niezależnie od powyższych niedociągnięć pracę oceniam bardzo pozytywnie. Doktorantka w pełni zrealizowała założony cel badań. Bardzo wysoko oceniam wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej mgr Joanny Knutelskiej - otrzymane wyniki są interesujące, nowatorskie i skłaniają do dalszych badań nad skutecznością, bezpieczeństwem stosowania i toksycznością związku MG-15, który może w przyszłości znaleźć zastosowanie w terapii chorób układu sercowo-naczyniowego. Warto zwrócić uwagę na fakt, że Doktorantka musiała opanować szeroki wachlarz metod oraz umiejętność współpracy z innymi zespołami badawczymi.

Ponadto wartym podkreślenia jest fakt, że tak obszerna praca została napisana niezwykle starannie i znajdują się w niej tylko nieliczne błędy literowe. Rozprawa doktorska mgr Joanny Knutelskiej obejmuje szeroko zaplanowane i pracochłonne badania o istotnej wartości poznawczej. W związku z tym stwierdzam, że przedstawiona do oceny monografia doktorska jest dowodem, iż mgr Joanna Knutelska posiada umiejętność samodzielnego rozwiązywania problemu naukowego, wykazując potrzebną wiedzę oraz odpowiednie przygotowanie teoretyczne i praktyczne w zakresie poruszanych zagadnień.

Rozprawa ta spełnia wszelkie wymagania stawiane pracom doktorskim w myśl ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 r., poz. 1789 z późn. zm.) w związku z tym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki farmaceutyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.krakow.pl
www.if-pan.krakow.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49
fax: +48 12 637 45 00

Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

Joanny Knutelskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

dr hab. Agnieszka Wąsik

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.krakow.pl
www.if-pan.krakow.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49
fax: +48 12 637 45 00