



Prof. dr hab. Mariusz Majewski, prof. zw.

Olsztyn, 29.06.2023

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk w *dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu*
w *dyscyplinie nauki farmaceutyczne*,
przedłożonej przez **mgr MAGDALENĘ SMERECZAŃSKĄ**,
zatytułowanej „**WPLYW CACYBP/SIP NA SZLAK MAPK W NADNERCZACH W
DOŚWIADCZALNYM NADCIŚNIENIU PIERWOTNYM I WTÓRNYM**”

Recenzja przygotowana została na zlecenie Dziekana Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, prof. dr hab. Wojciecha Milytyka (w oparciu o uchwałę Komisji Doktorskiej z dnia 21.03.2023 r.).

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa pani Magdaleny Smereczańskiej została wykonana w Zakładzie Histologii i Cytofizjologii Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem prof. dr hab. Ireny Kasackiej.

Rozprawa doktorska została napisana w układzie klasycznej monografii: na 125 stronach Autorka zawarła szereg klarownie zarysowanych rozdziałów i podrozdziałów rozprawy, na które złożyły się Spis treści, Wykaz skrótów, Wstęp, Założenia i cel pracy, Materiały i Metody, Wyniki badań, Dyskusja, Wnioski, Streszczenia polsko- oraz angielskojęzyczne oraz Piśmiennictwo. Treść rozprawy uzupełnia Spis tabel, rycin i fotografii.

Tematyka rozprawy doktorskiej obejmuje zagadnienia z zakresu etiopatogenezy nadciśnienia tętniczego, zarówno o charakterze pierwotnym, jak i wtórnym, badanych i analizowanych przez pryzmat wzorów ekspresji białka CacyBP/SIP w komórkach nadnerczy szczurów normotensyjnych, zwierząt z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem spontanicznym (SHR; użytych jako model nadciśnienia pierwotnego u człowieka), jak i poddanych jednostronnej nefrektomii i/lub podaniu octanu deoksykortykosteronu (model





Prof. dr hab. Mariusz Majewski, prof. zw.

nadciśnienia wtórnego u człowieka), w zasadzie wyczerpując dostępne w chwili obecnej zwierzęce modele doświadczalne choroby nadciśnieniowej.

Należy podkreślić, iż zagadnienia opisywane w przedłożonej do oceny rozprawie dotyczą zjawisk o potencjalnie niezwykle wysokim znaczeniu dla zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw rozwoju różnych postaci nadciśnienia tętniczego, co pozwala mieć nadzieję na powstanie w przyszłości protokołów terapeutycznych, bazujących na biochemicznych i cyto-fizjologicznych danych, uzyskanych w trakcie realizacji ocenianej rozprawy. Znalezienie nowych, potencjalnie istotnych punktów uchwytu dla leków hipotensyjnych, rozwijających swe działanie poprzez celowane interakcje ze szlakami regulacyjnymi, bazującymi na kaskadach sygnałowych CacyBP/SIP-kinazy rodziny MAPK wydaje się warte zachodu, mimo iż droga do ewentualnego osiągnięcia tego celu wydaje się bardzo długa; jednakże, bez powstania niniejszej rozprawy, perspektywa ta byłaby jeszcze bardziej odległa.

Należy podkreślić, iż **Wstęp** ocenianej rozprawy, biorąc pod uwagę treść, sposób poprowadzenia narracji oraz dobór materiałów ilustracyjnych, sam w sobie wypełnia wymogi pracy przeglądowej, doskonale wprowadzającej Czytelnika w tajniki nie tylko epidemiologii i etiopatogenezy różnych postaci choroby nadciśnieniowej, ale także w bardzo przejrzysty sposób przedstawia dostępne modele zwierzęce, pozwalające na badania czynników etiologicznych i sugerowanych etapów patogenezy odmiennych postaci nadciśnienia tętniczego. Zogniskowanie uwagi Doktorantki na nadnerczach, jako narządzie „współodpowiedzialnym” za rozwój stanów hipertensyjnych, w połączeniu z bardzo eleganckim i szczegółowym opisem potencjalnych funkcji białka CacyBP/SIP oraz jego znanych/sugerowanych oddziaływań z niezwykle, samą w sobie, skomplikowaną kaskadą kinaz białkowych aktywowanych przez mitogeny (MAPK), zasługuje także na pochwałę, wprowadzając Czytelnika w obecny stan wiedzy o indukowanych/dezaktywowanych nadciśnieniem elementach wspomnianego szlaku regulacyjnego.

Założenia i cel pracy stanowią krótki, jasno ustrukturyzowany podrozdział, na który składają się klarowne, jasno postawione pytania, na które Autorka chciała uzyskać wiążące odpowiedzi w oparciu o wyniki przeprowadzonego eksperymentu. Na szczególne podkreślenie zasługuje zwrócenie uwagi przez Autorkę na zarówno jakościowe, ilościowe, jak i ilościowe aspekty ekspresji badanych białek w komórkach zarówno





Prof. dr hab. Mariusz Majewski, prof. zw.

kory, jak i rdzenia narządu u zwierząt należących do czterech badanych grup, z których każda reprezentowała istotny z punktu widzenia uzyskania satysfakcjonujących wyników aspekt zdrowia lub postaci choroby nadciśnieniowej.

Materiały i metody – podrozdział ten jest napisany bardzo klarownie, opisy sposobów wykonania zabiegów operacyjnych, techniki pozyskania materiału badawczego, jego obróbki histologicznej, immunohistochemicznej oraz stosowanych technik biologii molekularnej perfekcyjnie pozwalają na podążanie śladem Autorki i ewentualne odtworzenie przeprowadzonych eksperymentów. Reasumując, spektrum opisanych w tym podrozdziale technik badawczych pozwala na stwierdzenie, iż ich wybór w pełni umożliwia uzyskanie wartościowych danych, pozwalających z kolei na uzyskanie zadowalających odpowiedzi na postawione w Założeniach i celu pracy pytania. Jednakże, należy także niestety podkreślić, iż uwadze Autorki umknęła kwestia ewentualnych różnic płciowych we wzorach ekspresji badanych mRNA lub białek, stąd też wydaje się zasadnym, „uzupełnienie” tej luki bądź to przed publikacją niniejszej rozprawy, poprzez wykonanie stosownych badań, bądź też opublikowanie kolejnej pracy o charakterze porównującym dynamikę badanych procesów w zależności od płci zwierzęcia.

Uzyskane **Wyniki** opisane są jasno, logicznie przedstawiając i dokumentując „mapę drogową” badań przeprowadzonych przez Autorkę, poczynwszy od „klasycznych” obrazów immunohistochemicznych badanych struktur nadnerczy w warunkach fizjologicznych i w odpowiednich „oknach czasowych” po wywołaniu stanu hipertensji, poprzez doskonale udokumentowane zmiany w ekspresji mRNA dla badanych białek, Na szczególne podkreślenie i pochwałę zasługuje wręcz podręcznikowa jakość zamieszczonych mikrofotografii. Jednym z dwu ewentualnych „uchybień” w tej części rozprawy, które można by było wyartykułować, jest brak próby dokonania badań wzorów ko-lokalizacji poszczególnych białek (np. stosując technikę podwójnych/potrójnych barwień immunofluorescencyjnych), co w sposób znakomity pozwoliłoby na „bezpośrednie” powiązanie spadków/wzrostów ekspresji badanych protein w tej samej komórce. Drugą „niedogodnością” dla Czytelnika jest fakt prezentacji poszczególnych mikrofotografii na osobnych stronach rozprawy, co utrudnia Czytającemu „porównywanie w czasie rzeczywistym” intensywności reakcji immunochemicznych w poszczególnych strukturach/u zwierząt z poszczególnych grup badanych. Ponieważ jednak uzyskane dane są zestawione w przejrzysty sposób w Tabeli 5, powyższa uwaga ma charakter ściśle kosmetyczny.





Prof. dr hab. Mariusz Majewski, prof. zw.

Dyskusja poprowadzona jest w zwięzły, przejrzysty sposób, pozwalając bez problemów podążać tropem dywagacji Autorki. W podrozdziale tym Doktorantka odnosi się do uzyskanych wyników w sposób niezwykle obiektywny, dyskutując ich potencjalne znaczenie na tle dostępnych danych literaturowych. Wspomniane i przedyskutowane wydają się być wszystkie aspekty uzyskanych wyników i ich odniesienia do (niestety, czasami niezwykle, wręcz dramatycznie, skąpej) literatury przedmiotu (może z wyjątkiem odniesienia się Autorki do najnowszej pozycji literaturowej w tym obszarze – Smereczańska M., Domian N., Młynarczyk G., Kasacka I. (2023) The effect of CacyBP/SIP on the phosphorylation of ERK1/2 and p38 kinases in clear cell renal cell carcinoma. *Int J Mol Sci*, 24(12):10362. doi: 10.3390/ijms241210362.)

Rozprawę wieńczą cztery jasno sprecyzowane **Wnioski**, podsumowujące w pełni uzyskane przez Autokę wyniki i ich implikacje dla poszerzenia naszej wiedzy o ewentualnych oddziaływaniach/znaczeniu funkcjonalnego układu regulatorowego CacyBP/SIP – MAPK nadnerczy.

Piśmiennictwo wykorzystane w ocenianej rozprawie obejmuje 170 pozycji, doskonale dobranych pod kątem ich istotności dla omawianego w odniesieniu do nich zagadnienia.

Podsumowując, miałem niewątpliwą przyjemność oceniać elegancko zaprojektowaną i niezwykle sprawnie napisaną pracę eksperymentalną, koncentrującą się na wskazaniu mechanizmów leżących u podstaw potencjalnie istotnego procesu interakcji CacyBP/SIP – MAPK w regulacji funkcji komórek kory i rdzenia nadnerczy w warunkach normotensji/hipertensji o różnej etiologii. Oceniana rozprawa dostarcza na tyle dużo istotnych danych, pozwalających na planowanie dalszych badań, iż można żywić nadzieję, że w przyszłości znajdziemy sposób na „kliniczne wykorzystanie” opisywanych w niej zjawisk.

Z obowiązku recenzenta muszę, jednakże, wskazać na błędy redakcyjne, które wkrały się w tekst rozprawy. Na początku, z przymrużeniem oka, należy podkreślić żelazną, godną prawdziwej histolożki, konsekwencję Autorki w bezwzględny usuwaniu z tekstu rozprawy niepożądanych artefaktów, takich jak przecinki lub nawiasy, co czasami prowadzi do powstania bardzo „ciekawych” sformułowań... Jednakże, w trakcie przekształcania treści rozprawy w tekst przygotowywanego do publikacji manuskryptu, sugerowałbym poczynienie jednak pewnych ustępstw i zaprzyjaźnienie się z tymi, skądinąd niegroźnymi i przeuroczymi, znakami interpunkcyjnymi...





Prof. dr hab. Mariusz Majewski, prof. zw.

Powracając po tej dygresji do meritum, przytaczam, aby niepotrzebnie nie przedłużać, kilka przykładów (pozostałe lapsusy językowe zostały zaznaczone w elektronicznej wersji rozprawy i przekazane Autorce):

Str. 11 – jest „kilkakrotnych pomiarów”, powinno być „kilkukrotnych pomiarów”;

Str. 11 – podtytuł sekcji 1.2 – jest „Rys historyczny nadciśnienia tętniczego”, powinno być raczej „Rys historyczny badań nad nadciśnieniem tętniczym”;

Str. 12 – jest „Udało się wykryć i opisać właściwości substancji syntetyzowanych przez komórki śródbłonna, takie jak: tlenek azotu...” powinno być raczej „Udało się wykryć i opisać właściwości substancji syntetyzowanych przez komórki śródbłonna, takich jak: tlenek azotu...”;

Str. 15 – jest „... nieleczone nadciśnienie tętnicze jest przyczyną zmian w układzie sercowo-naczyniowym, nerek, mózgu i innych narządów.”, powinno być raczej „... nieleczone nadciśnienie tętnicze jest przyczyną zmian w układzie sercowo-naczyniowym, nerkach, mózgu i innych narządach.”;

Str. 16-17 – jest „...29 polimorfizmów charakteryzujących się zmianą nukleotydu SNP, których...”, powinno być „...29 polimorfizmów charakteryzujących się zmianą *pojedynczego* nukleotydu (SNP), których...”;

Str. 21 – jest „Wyróżnia się dwie główne grupy przyczyn tego rodzaju nadciśnienia. Pierwszą stanowią chorzy z nadczynnością tarczycy, cukrzycą, niedomykalnością zastawki aorty.” – chorzy raczej nie stanowią przyczyny jakiegokolwiek rodzaju nadciśnienia, a w aorcie mamy zastawki półksiężycowate, zawsze trzy, powinno się więc użyć tu liczby mnogiej;

Str. 30 – jest „... zwiększoną częstość akcji serca i skurcz serca, reakcję na komórki mięśni gładkich naczyń...” – warto pochylić się nad tym zdaniem, ponieważ w obecnej formie jest ono niezrozumiałe.

Str. 33 – jest „... umiarkowany w sercu, wątrobie i mięśniu gładkim żołądka, natomiast...” powinno być raczej „... umiarkowany w komórkach serca, wątroby i mięśniach gładkich żołądka, natomiast...”

Jak wspomniano powyżej, pozostałe sugestie poprawek językowych zawarto w elektronicznej wersji rozprawy.





Prof. dr hab. Mariusz Majewski, prof. zw.

WNIOSKI KOŃCOWE

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska magister Magdaleny Smereczańskiej wnosi znaczący wkład teoretyczny i praktyczny w rozwój nauk medycznych. Wykonana praca o bogatej podbudowie teoretyczno-eksperymentalnej dowodzi, że jej Autorka potrafi samodzielnie prowadzić badania naukowe i rozwiązywać złożone problemy teoretyczne i eksperymentalne. Ze względu na wagę podjętego w rozprawie problemu badawczego i znaczenie wyników badań zarówno dla nauk podstawowych jak i w przyszłości, dla praktyki, a przede wszystkim na pozytywną ocenę wartości merytorycznej i metodologicznej rozprawy doktorskiej, stwierdzam, iż *oceniana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789)*. W oparciu o powyższe wnoszę do Wysokiej Rady Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Magdaleny Smereczańskiej do dalszych etapów postępowania.

Co więcej, biorąc pod uwagę wkład pracy Autorki oraz perfekcyjnie wykonaną dokumentację mikrofotograficzną, wnoszę jednocześnie o stosowne wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Smereczańskiej.

Prof. dr hab. Mariusz Majewski, prof. zw.

