

prof. dr hab. Ewa Koźniewska-Kołodziejaska  
Pracownia Neurochirurgii Doświadczalnej i Klinicznej  
Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej  
im. Mirosława Mossakowskiego PAN

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Krzysztofa Mińczuka  
pt. „Interakcja pomiędzy zaangażowanymi w odpowiedź presyjną receptorami  
kannabinoidowymi CB1 i angiotensynowymi w jądrze przykomorowym podwzgórza  
czuwających szczurów z nadciśnieniem pierwotnym i normotensyjnych”

Badania stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej mgr inż. Krzysztofa Mańczuka zostały przeprowadzone pod opieką pani Prof. Barbary Malinowskiej, zajmującej się od wielu lat udziałem endokannabinoidów w regulacji układu krążenia i będącej ekspertką w tej dziedzinie. Wyniki wcześniejszych badań zespołu Pani Profesor sugerowały, że w regulacji ciśnienia tętniczego krwi u szczurów normotensyjnych występuje interakcja na poziomie receptorowym pomiędzy podwzgórzowym układem renina-angiotensyna i układem endokannabinoidowym.

Celem projektu realizowanego w niniejszej pracy było wyjaśnienie udziału i interakcji receptorów obu układów w odpowiedzi presyjnej na podanie agonistów tych układów do jądra przykomorowego podwzgórza (PVN) u czuwających szczurów normotensyjnych Wistar Kyoto (WKY) oraz szczurów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym (model SHR).

Wybór tematu jest ze wszech miar zasadny biorąc pod uwagę, że jądro przykomorowe podwzgórza jest najważniejszym ośrodkiem autonomicznej kontroli układu krążenia, angiotensyna II (Ang II) wywiera działanie pobudzające na neurony PVN i wywołuje odpowiedź presyjną ze strony układu krążenia znoszoną nie tylko przez antagonistę receptorów angiotensyny II AT1R - losartan, ale także przez antagonistę receptorów kannabinoidowych CB1R – AM251.

Rozprawa doktorska mgr inż. Krzysztofa Mińczuka została przygotowana w formie spójnego tematycznie zbioru 2 publikacji wieloautorskich, opatrzonego obszernym komentarzem Doktoranta. W obu publikacjach, które ukazały się w 2022 roku w czasopiśmie naukowym o zasięgu międzynarodowym, posiadających wysoki współczynnik oddziaływania, Doktorant jest pierwszym autorem. Pierwsza praca, oryginalna, o tytule “Cross-Talk between CB1, AT1, AT2 and Mas Receptors Responsible for Blood Pressure Control in the Paraventricular Nucleus of Hypothalamus in Conscious Spontaneously Hypertensive Rats and

Their Normotensive Controls” ukazała się w czasopiśmie *Cells* o współczynniku oddziaływania 6,6. Druga, praca przeglądowa “Cross-Talk between the (Endo)Cannabinoid and Renin-Angiotensin Systems: Basic Evidence and Potential Therapeutic Significance” została opublikowana w *Int. J. Mol. Sci.* o współczynniku oddziaływania 5,924.

Do opracowania dołączone są oświadczenia współautorów, określające merytoryczny wkład i oświadczenie Doktoranta, określające Jego udział procentowy, w przygotowaniu publikacji oraz zgody współautorów na włączenie tych publikacji do rozprawy doktorskiej mgr inż. Krzysztofa Mańczuka. Dołączona jest też zgoda Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Olsztynie na wykonanie doświadczeń zaplanowanych do realizacji projektu.

Celem szczegółowym badań opublikowanych w pracy oryginalnej wchodzącej w skład rozprawy było określenie roli interakcji pomiędzy receptorami kannabinoidowymi CB1 oraz receptorami AT1 i AT2 dla Ang II i receptorami Mas dla angiotensyny 1-7 (Ang 1-7), w odpowiedzi presyjnej na podanie agonistów tych receptorów do jądra PVN u czuwających szczurów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym (model SHR) i ich normotensyjnej kontroli Wistar Kyoto (WKY). Ponadto, Doktorant oznaczył ekspresję receptorów obu układów w PVN oraz w innych kluczowych dla regulacji układu krążenia regionach mózgu, takich jak dogłowy brzuszo-boczny obszar rdzenia przedłużonego (RVLM) i jądro pasma samotnego (NTS). Szkoda, że ten fakt nie został odnotowany w rozdziale 5 komentarza zawierającym skrócony opis metodyki.

Wyniki opublikowane w pracy oryginalnej wykazują, że mikroiniekcja do PVN angiotensyny II, angiotensyny 1-7 i CP55940 (agonista receptorów CB1), prowadzi do wzrostu ciśnienia tętniczego krwi, przy czym efekty presyjne są wyższe u szczurów SHR niż u WKY. Najsilniejsze działanie wykazuje Ang II, a najslabsze Ang 1-7. Podanie antagonistów receptorów AT1, losartanu oraz AT2, PD123319 zmniejszało odpowiedź presyjną wywołaną mikroiniekcją Ang II i CP55940. Z kolei, antagonistą receptorów Mas A-779 zmniejszał wzrost ciśnienia tętniczego po podaniu do PVN Ang 1-7 i CP55940. Antagonista receptorów CB1 AM251 osłabiał wzrost ciśnienia tętniczego w odpowiedzi na mikroiniekcję Ang II i Ang 1-7.

Wynik dotyczący silniejszych efektów presyjnych u SHR niż u szczurów WKY w odpowiedzi na podanie Ang II, Ang 1-7 i CP55940 do jądra przykomorowego podwzgórza stanowi o innowacyjności pracy. Do tej pory opisanych wyżej zależności nie badano u szczurów z nadciśnieniem samoistnym.

Na podkreślenie zasługuje też fakt zaplanowania i przeprowadzenia, niełatwych metodycznie doświadczeń, na szczurach czuwających. Tylko takie badania mogą mieć potencjał translacyjny.

Wyniki badań opublikowanych w pracy oryginalnej uważam za wartościowe, interesujące i bez wątplenia wnoszące oryginalny wkład do nauki. Szczególnie interesujące, moim zdaniem, są wyniki dotyczące wzrostu ciśnienia tętniczego po podaniu do PVN Ang 1-7 oraz agonisty receptorów AT<sub>2</sub>. Uważam, że stanowią one punkt wyjścia do dalszych badań, bo oba typy receptorów znane są z działania tonizującego, polegającego na hamowaniu presyjnego działania pobudzenia receptorów AT<sub>1</sub>. Jest to obserwacja ciekawa, zwłaszcza w kontekście wyników pracy oryginalnej, wskazujących niższą ekspresję receptorów Mas i AT<sub>2</sub> w PVN, RVLM i NTS u szczurów SHR niż u szczurów WKY.

Praca przeglądowa stanowi wyczerpujące, 42 stronicowe, bogate zestawienie najnowszego, starannie wyselekcjonowanego piśmiennictwa dotyczącego charakterystyki i interakcji układu angiotensynowego i endokannabinoidowego na poziomie komórkowym. Na podkreślenie zasługuje próba określenia potencjalnego znaczenia terapeutycznego leków modulujących aktywność tych układów, także w kontekście leczenia infekcji SARS-CoV-2.

Na komentarz własny Doktoranta, spinający całość, składa się 8 rozdziałów: 1. Wykaz publikacji będących podstawą pracy doktorskiej, 2. Spis skrótów, 3. Wprowadzenie, 4. Cel pracy z uzasadnieniem podjętej tematyki badawczej, 5. Realizacja celów naukowych, materiały i metody badawcze, podsumowanie wyników badań i dyskusja, 6. Wnioski, 7. Streszczenie w języku polskim, 8. Streszczenie w języku angielskim. W następnych rozdziałach zamieszczone są praca oryginalna i przeglądowa. Całość przygotowana jest bardzo starannie, opracowanie graficzne schematów działania układu angiotensynowego i endokannabinoidowego są czytelne i pomagają w zrozumieniu skomplikowanych wpływów RAS i eCB na regulację rozmaitych procesów fizjologicznych, w tym regulacje układu krążenia. Uwagę dotyczącą braku informacji o badaniu ekspresji receptorów obu układów w rozdziale 5 opisującym metodykę, zamieściłam wyżej. Moje wątpliwości budzi rozdział 6. Wnioski. Pierwsze dwa stanowią podsumowanie wyników. Wnioski są wobec tego trzy, co zostało właściwie sformułowane w rozdziałach 8 i 9 stanowiących streszczenie rozprawy w języku polskim i angielskim.

W tej części rozprawy znalazłam kilka literówek i błędów gramatycznych (np. str. 10, 12, 17, 18), ale jest ich niewiele i nie wpływają na moją pozytywną opinię o starannym przygotowaniu rozprawy.

Reasumując, przedłożoną mi do recenzji rozprawę doktorską mgr inż. Krzysztofa Mińczuka pt. „Interakcja pomiędzy zaangażowanymi w odpowiedź presyjną receptorami kanabinoidowymi CB1 i angiotensynowymi w jądrze przykomorowym podwzgórza czuwających szczurów z nadciśnieniem pierwotnym i normotensyjnych” oceniam pozytywnie i wnioskuję do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o nadanie Panu mgr inż. Krzysztofowi Mińczukowi stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Warszawa, 7 sierpnia 2022 r.



Prof. dr hab. n. med. Ewa Koźniewska-Kołodziejka