

Załącznik numer 2
do Wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego

Marta Kuczeriszka

Autoreferat w języku polskim

Zakład Fizjologii Nerek i Płynów Ustrojowych
Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
im. Mirosława Mossakowskiego
Polskiej Akademii Nauk

Warszawa, 2020

Załącznik nr 2. Autoreferat w języku polskim Marta Kuczeriszka

Załącznik nr 2 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego

1. Imię i nazwisko

Marta Kuczeriszka

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2001 - Dyplom ukończenia studiów na Wydziale Nauk o Zwierzętach, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Tytuł pracy magisterskiej wykonanej w Katedrze Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt pod opieką dr hab. Elżbiety Wirth- Dzieciołowskiej „Próba określenia wpływu genów umaszczenia na zachowanie się myszy *Mus musculus*”.
Uzyskany tytuł: magister inżynier, specjalność – organizacja produkcji zwierzęcej.

2008 - Dyplom doktora nauk medycznych uzyskany w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie. Tytuł rozprawy doktorskiej pod kierunkiem prof. dr. hab. Elżbiety Kompanowskiej-Jezierskiej „Tlenek azotu a pochodne kwasu arachidonowego w metabolizmie zależnym od CYT P-450 w nerce szczura w zależności od podaży sodu w diecie”.

Uzyskany stopień naukowy: doktor nauk medycznych w zakresie biologii medycznej.

Recenzenci: Dr hab. Ewa Koźniewska-Kołodziejska

Prof. dr hab. Jacek Przybylski

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2001-2002 Zwierzętarnia, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN, Warszawa

2002 - 2007 studia doktoranckie, Pracownia Fizjologii Nerek i Płynów Ustrojowych, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN, Warszawa

2008 - obecnie asystent, Zakład Fizjologii Nerek i Płynów Ustrojowych, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN, Warszawa

2012 - 2013 staż podoktorski (Post-doctoral Research Fellow) w ramach programu Mobilność Plus MNiSW, Department of Physiology, Tulane University, School of Medicine, Stany Zjednoczone Ameryki Północnej; pod kierunkiem dr L.G. Navara

4. Wykazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

Zależność tlenu azotu, pochodnych kwasu arachidonowego (AA) zależnych od szlaku CYP-450 oraz receptorów purynowych w regulacji ciśnienia tętniczego krwi, czynności wydalniczej i hemodynamicznej nerki. Dominująca rola tlenu azotu.

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

1. Dobrowolski L., Kuczeriszka M., Castillo A., Majid DS., Navar LG. Role of atrial natriuretic peptide in mediating the blood pressure-independent natriuresis elicited by systemic inhibition of nitric oxide. *Pflugers Archiv* 2015 Apr;467(4):833-41. DOI: 10.1007/s00424-014-1557-4
IF=3,654//5-cio letni=3,142

Punkty MNISW: 40

W tej publikacji jestem autorem korespondencyjnym.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu i wykonaniu części doświadczeń, na opracowaniu i interpretacji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na: 55%

2. Kuczeriszka M., Lipkowski AW, Sadowski J, Kompanowska-Jezierska E. An endomorphine analog ([d-Ala²]-Endomorphin 2, TAPP) lowers blood pressure and enhances tissue nitric oxide in anesthetized rats. *Pharmacological Reports* 2016 Feb 6;68(3):616-619.

DOI: 10.1016/j.pharep.2016.01.007

IF=2,587//5-cio letni=2,829

MNiSW: 25

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu i wykonaniu części doświadczeń, na opracowaniu i interpretacji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na: 65%

3. M. Kuczeriszka, L. Dobrowolski, A. Walkowska, J. Sadowski and E. Kompanowska-Jezierska. Adenosine effects on renal function in the rat: role of sodium intake and cytochrome P450. *Nephron Physiology* 2013;123:1-5 DOI: 10.1159/000353705

IF=1,545//5-cio letni=1,990

MNiSW: 30

Załącznik nr 2. Autoreferat w języku polskim **Marta Kuczeriszka**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu i wykonaniu części doświadczeń, na opracowaniu i interpretacji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na: 55%

4. A. Walkowska, **M. Kuczeriszka**, J. Sadowski, K.H. Olszyński, L. Dobrowolski, L. Červenka, B.D. Hammock, E. Kompanowska-Jezińska. High salt intake increases blood pressure in normal rats: putative role of 20-HETE and no evidence on changes in renal vascular reactivity. *Kidney and Blood Pressure Research* 2015;40(3):323-34.

DOI: 10.1159/000368508

IF=2,908//5-cio letni=2,057

MNiSW: 25

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu i wykonaniu części doświadczeń, na opracowaniu i interpretacji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na: 50%

5. **Kuczeriszka M.**, Walkowska A, Olszynski KH, Rafałowska J, Sadowski J, Kompanowska-Jezińska E. Arginine and tetrahydrobiopterin supplementation in rats with salt-induced blood pressure increase: minor hypotensive effect but improvement of renal haemodynamics. *J Physiol Pharmacol.* 2019 Apr;70(2). **DOI: 10.26402/jpp.2019.2.05**

IF=2,644//5-cio letni=2,624

MNiSW: 70

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu i wykonaniu części doświadczeń, na opracowaniu i interpretacji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na: 60%

6. **Marta Kuczeriszka**, Joanna Dorota Sitek, Agnieszka Walkowska, Janusz Sadowski, Leszek Dobrowolski. Interplay of the adenosine system and NO in control of renal haemodynamics and excretion: comparison of normoglycaemic and streptozotocin diabetic rats. *Nitric Oxide* 2020 1;104-105:20-28. **DOI: 10.1016/j.niox.2020.08.003.**

IF=3,311//5-cio letni=3,511

MNiSW: 100

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu i wykonaniu części doświadczeń, na opracowaniu i interpretacji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na: 60%

Sumaryczny IF prac wchodzących w skład osiągnięcia: 16,649//5-cio letni: 16,143

Łączna punktacja MNiSW: 290 pkt

Indeks Hirsha: 7

Załącznik nr 2. Autoreferat w języku polskim Marta Kuczeriszka

- c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

W problematyce publikacji wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego można wyróżnić następujące nurty tematyczne:

1. Wpływ tlenu azotu (NO) (endogennego i indukowanego) na hemodynamikę i czynność wydalniczą nerek w warunkach zmian lub bez zmian ciśnienia tętniczego u zwierząt normotensyjnych, bez obciążenia sodem czy zaburzeniami metabolicznymi. Badania przeprowadzono w macierzystym Zakładzie Fizjologii Nerek i Płynów Ustrojowych IMDiK PAN, oraz Department of Physiology, School of Medicine, Tulane University, USA, kierowanej przez prof. Luisa G. Navara (*publikacje numer: 1 i 2*). *Publikacja numer 1* uzyskała Nagrodę Dyrektora Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN im. M. Mossakowskiego, za artykuły opublikowane w najwyższej punktowanych czasopiśmie międzynarodowych.
2. Wpływ tlenu azotu i metabolitów kwasu arachidonowego (AA) powstających w szlaku monoooksygenacji zależnej od CYP-450 na funkcje nerek w warunkach nadciśnienia tętniczego indukowanego u zwierząt normotensyjnych dietą wysokosodową. Badania przeprowadzono w macierzystym Zakładzie Fizjologii Nerek i Płynów Ustrojowych IMDiK PAN, we współpracy z kierowanym przez dr Ludka Cervenkę, Center of Experimental Medicine, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Praga, Republika Czeska oraz Department of Entomology and UCD Comprehensive Cancer Center, University of Kalifornia, USA – prof. B.D. Hammock (*publikacje numer: 3, 4, 5*)
3. Interakcje systemów parakrynych (metabolitów kwasu AA zależnych od CYP-450, adenozyliny i jej receptorów oraz NO) w kontroli hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek; z przeglądu piśmiennictwa wynikało, że dieta wysokosodowa lub przewlekła hiperglikemia modyfikują rolę tych czynników i ich interakcje w nerce (*publikacje numer: 3 i 6*). Badania przeprowadzono w macierzystym Zakładzie Fizjologii Nerek i Płynów Ustrojowych IMDiK PAN.

Uwagi o metodyce badań:

Większość badań przedstawionych w publikacjach cyklu habilitacyjnego dotyczy badań hemodynamiki nerek szczura połączonych z bezpośrednim pomiarem *in situ* zmian biodostępności tlenu azotu w tkance nerkowej; prace te dostarczają nowej wiedzy we wspomnianym zakresie (*publikacje numer z cyklu habilitacyjnego 2, 4, 6*).

Prowadzone badania mieszczą się w obszarze fizjologii integracyjnej. We wszystkich badaniach wykorzystano dorosłe szczury ze stada Sprague Dawley lub Wistar, osobniki naiwne, normotensyjne, lub zdefiniowane, zwierzęce modele nadciśnienia tętniczego bądź cukrzycy. Nadciśnienie tętnicze indukowano: podając zwierzętom okresowo (przez 7-28 dni) paszę bogatą w sód (Na, 4% w/w), *publikacje (nr 3, 4, 5)* a cukrzycę wstrzykując dootrzewnowo odpowiednią dawkę streptozotocyny, (*publikacja nr 6*).

W zależności od układów doświadczalnych aktywność endogennego NO lub szlaków metabolicznych zależnych od CYP-450 hamowano podając odpowiednie inhibitory przewlekle (rozpuszczone w wodzie do picia czy też w formie iniekcji dootrzewnowej) lub bezpośrednio w doświadczeniu ostrym, zwierzętom w narkozie (infuzja dożylna lub bezpośrednio do tętnicy nerkowej). W badaniach dotyczących roli NO wykorzystano niespecyficzny inhibitor (ester metylowy-Nitro-L-argininy, L-NAME) do blokowania aktywności wszystkich syntaz NO podawany w wodzie do picia przez 4 dni poprzedzające doświadczenie ostre. W badaniach dotyczących roli szlaków metabolicznych zależnych od CYP-450 podawano niespecyficzny inhibitor aktywności CYP-450 (1-aminobenzotriazole, ABT) w dootrzewnowej iniekcji przez kolejne 7 dni poprzedzające doświadczenia ostre. Z kolei do chronicznego blokowania aktywności rozpuszczalnej epoksyhidrolazy (sEH), przeciwdziałając rozkładowi kw. epoksyeikozatrienowych w nieaktywne związki, wykorzystano c-AUCB (*cis*-4-[4-(3- adamantan-1-yl-ureido)cyclohexyl-oxy]benzoic acid) – podawany w wodzie do picia przez ostatnich 7 dni diety przed właściwym doświadczeniem (ostrym)).

W niektórych badaniach u zwierząt czuwających prowadzono pomiar ciśnienia tętniczego krwi na ogonie przy pomocy aparatu CODA (Kent Scientific, USA) i/lub pobierano krew z żyły ogonowej, w celu oznaczenia np. osmolalności osocza, stężenia sodu czy też monitorowania glikemii (*publikacje nr 4, 5, 6*).

Główny trzon badań prezentowanego cyklu tworzą doświadczenia ostre przeprowadzone u szczurów w narkozie (sól sodowa Tiopentalu). Podkreślić należy, że we wszystkich tych eksperymentach zwierzęta były przygotowane chirurgicznie do prowadzenia jednocześnie pomiarów hemodynamiki, ukrwienia nerki oraz wydalania nerkowego, a w niektórych dodatkowo mierzono także zmiany biodostępności NO w tkance nerki *in situ*.

Cięśnienie tętnicze krwi było mierzone w sposób inwazyjny, za pomocą cewnika, umieszczonego w tętnicy udowej lub szyjnej, połączonego z przetwornikiem i ciśnieniomierzem Stoelting, USA. Pomiary całkowitego ukrwienia nerki były prowadzone przy użyciu czujnika ultradźwiękowego umieszczonego na tętnicy nerkowej i połączonego z przepływomierzem firmy Transonic, USA. Pomiary lokalnego ukrwienia poszczególnych stref nerki były prowadzone z wykorzystaniem techniki laser-Doppler przy użyciu czujników światłowodowych umieszczonych na powierzchni (pomiar perfuzji kory nerki, *cortical blood flow*, CBF) lub wkluwanych do nerki na różną głębokość, tymi ostatnimi mierzono odpowiednio: ukrwienie rdzenia zewnętrznego (*outer medullary blood flow*, OMBF) i wewnętrznego (*inner medullary blood flow*, IMBF). Czujniki były połączone z wielokanałowym miernikiem przepływu krwi firmy Perimed, Szwecja. Wydalanie nerkowe mierzono grawimetrycznie, w jednostce czasu, poprzez cewnik umieszczony w moczowodzie. Pomiar zmian stężenia NO w tkance nerki *in situ* prowadzono przy użyciu selektywnych dla tego gazu czujników amperometrycznych – jest to unikatowa technika umożliwiająca pomiar typu *real time*, której wykorzystanie w tego typu badaniach opracowano wcześniej w macierzystym Zakładzie (**Grzelec-Mojzesowicz, Sadowski, 2007**).

Substancje użyte w przedstawionych badaniach były komercyjnie dostępne, poza TAPP – który został zsyntetyzowany przez prof. A. Lipkowskiego, oraz cAUCB – który został przygotowany przez prof. B.D. Hammocka. Oba związki powstały jako autorskie.

Tabela użytych skrótów:

20-HETE – kwas 20-hydroksyeikozatetraenowy

A1R – receptor A1 dla adenozyiny

A2R – receptor typu A2 dla adenozyiny

AA – *arachidonic acid*, kwas arachidonowy

ABT – *1-aminobenzotriazole*, nieselektywny inhibitor aktywności monoooksygenacji zależnej od CYP-450

ACh – acetylocholina

ADO - adenozyina

ANP – *atrial natriuretic peptide*, przedsionkowy peptyd natriuretyczny

BH₄ – tetrahydrobiopteryna, kofaktor reakcji syntezy tlenku azotu

BNP – *brain natriuretic peptide*, mózgowy peptyd natriuretyczny

c-AUCB - *cis-4-[4-(3- adamantan-1-yl-ureido)cyclohexyl-oxy]benzoic acid (c-AUCB)*, inhibitor rozpuszczalnej hydrolazy epoksydowej

CBF – *cortical blood flow*, przepływ krwi przez korę nerki

CYP-450 – cytochrom P450

DM – *diabetes mellitus*, zwierzęta z eksperymentalnie indukowaną cukrzycą

EETs – kwasy epoksyekozatrienowe

eNOS, NOS-3 – *endothelial nitric oxide synthase*, śródbłonkowa syntaza tlenku azotu

GFR - *glomerular filtration rate*, tempo filtracji kłębuszkowej

HS – *high salt diet*, dieta wysokosodowa

IMBF - *inner medullary blood flow*, przepływ krwi przez rdzeń wewnętrzny nerki

iNOS, NOS-2 – *inducible nitric oxide synthase*, indukowana syntaza tlenku azotu, enzym odpowiedzialny za jego syntezę

L-arg – L-arginina, substrat dla syntezy tlenku azotu

L-NAME – ester metylowy-Nitro-L-argininy, nieselektywny inhibitor syntaz tlenku azotu

MABP – *mean arterial blood pressure*, średnie ciśnienie tętnicze krwi

NE – norepinefryna

NG – *normoglycaemic*, zwierzęta normoglikemiczne

nNOS, NOS-1 – *neuronal nitric oxide synthase*, neuronalna syntaza tlenku azotu

NO – *nitric oxide*, tlenek azotu

NOS – *nitric oxide synthase*, syntaza tlenku azotu

NPR-A – *atrial natriuretic peptide receptor*, receptor przedsionkowego petydu natriuretycznego

OMBF – *outer medullary blood flow*, przepływ krwi przez rdzeń zewnętrzny nerki

RAAS – system renina-angiotensyna-aldosteron

RBF - *total renal (whole kidney) blood flow*, całkowity przepływ krwi przez nerkę

ROS – *reactive oxygene species*, wolne rodniki tlenowe

RPP - *renal perfussion pressure*, ciśnienie perfuzyjne nerki

RVR – *renal vascular resistance*, nerkowy opór naczyniowy

sEH - *soluble epoxide hydrolase*, rozpuszczalna hydrolaza epoksydowa

STZ – streptozotocyna

W prezentowanych badaniach wykazałam, że:

1. Systemowe podawanie inhibitora NOS (*L-NAME*), w dawkach wywołujących umiarkowany wpływ na ciśnienie tętnicze krwi oraz na filtrację kłębuszkową nerek prowadzi do wzrostu nerkowego wydalania sodu, w którym może pośredniczyć przedsionkowy hormon natriuretyczny, o którym wiadomo, że w nerce hamuje reabsorpcję kanalikową. Obserwowane po *L-NAME* obniżenie ukrwienia rdzenia nerki wskazuje, że zjawisko natriurezy było nie związane ze zmianami ukrwienia tego obszaru, ponieważ zmiany obserwowane w rdzeniu sprzyjałyby obniżeniu wydalania sodu. Reasumując, uzyskane wyniki wskazują, że obniżenie aktywności syntaz NO, nie związane ze zmianami ciśnienia tętniczego krwi może być ważnym czynnikiem natriuretycznym.
2. Nasilający się hipotensyjny efekt stymulacji receptorów opioidowych przy użyciu TAPP (agonisty receptorów opioidowych) był powiązany ze znacznym wzrostem siły sygnału NO mierzonego w tkance rdzenia nerki. Mechanizmy odpowiedzialne za obserwowane zmiany w poziomie NO i efektach jego działania, w warunkach podstawowych (normotensji i normoglikemii) nie są proste do interpretacji i stanowią podstawę do prowadzenia kolejnych badań.

3. Wyeliminowanie efektów działania 20-HETE po podaniu blokera, sugeruje że w przedstawionym układzie eksperymentalnym, rozwój sodozależnej formy nadciśnienia tętniczego, przynajmniej w jego początkowej fazie, zależy od aktywności 20-HETE. Natomiast zwiększenie tkankowej biodostępności antyhipertensyjnie działających EETs nie powoduje istotnego efektu hipotensyjnego.

Wydłużenie czasu ekspozycji na dietę HS do 21 dni, spowodowało obniżenie tkankowej biodostępności tlenu azotu, co było prawdopodobnie czynnikiem zaangażowanym w powstanie i rozwój sodozależnej formy nadciśnienia tętniczego.

4. We wcześniejszych badaniach prowadzonych w naszym Zakładzie [Walkowska i wsp., 2015] wykazano, że u szczurów utrzymywanych na diecie o standardowej zawartości sodu, biodostępność tlenu azotu jest znacznie wyższa w rdzeniu nerki niż w korze, natomiast ulega obniżeniu w warunkach wysokiej podaży sodu.

5. Suplementacja L-argininy, substratu dla syntezy NO, w umiarkowany sposób zwiększyła całkowity przepływ krwi przez nerkę (RBF) i ukrwienie kory nerki (CBF), natomiast znacząco zwiększyła perfuzję rdzenia nerki w obszarze rdzenia wewnętrznego (IMBF), co sugeruje poprawę biodostępności NO. To pozytywne zjawisko było prawdopodobnie ograniczone do obszaru rdzenia nerki i było niewystarczająco silne by wpłynąć na obniżenie ciśnienia tętniczego krwi.

6. Nowym i nieoczekiwanym odkryciem było to iż u wszystkich szczurów z czynnymi syntazami NO, blokadzie adenozynowych receptorów P1 towarzyszył wzrost biodostępności NO w tkance rdzenia nerki.

7. U szczurów pozbawionych aktywności syntaz NO, zarówno normoglikemicznych (NG) jak i z eksperymentalną cukrzycą DM, blokada aktywności receptorów adenozynowych spowodowała porównywalne rozszerzenie naczyń nerkowych (wazodylatację) – co wskazuje na porównywalny/podobny naczyniokurczący wpływ Ado niezależnie od stanu glikemii.

Substancje parakrynnne, powstające lokalnie w nerce, m.in. tlenek azotu, metabolity kwasu arachidonowego powstające w szlaku monoooksygenacji zależnym od CYP-450 (np. EETs i 20-HETE) wpływają na hemodynamikę i czynność wydalniczą nerki i mogą być zaangażowane w długoterminową kontrolę ciśnienia tętniczego krwi. Nerka jest kluczowym narządem w długo- i krótkoterminowej kontroli ciśnienia krwi. Regulacja ciśnienia tętniczego krwi zależy od czynności hemodynamicznej (głównie rdzenia nerki) i wydalniczej nerki. Z kolei ważnym czynnikiem parakrynnym w lokalnej kontroli hemodynamiki i funkcji wydalniczej nerek jest adenozyna (Ado, metabolit ATP); w efektach jej działania mogą pośredniczyć NO jak i pochodne AA zależne od CYP-450.

Pierwszy nurt prezentowanych badań dotyczy wpływu NO (produkowanego przez endogenną i indukowaną syntazę) na hemodynamikę i czynność wydalniczą nerek w warunkach zmian lub bez zmian ciśnienia tętniczego krwi u zwierząt normotensyjnych, bez obciążenia sodem czy zaburzeniami metabolicznymi.

Rola tlenu azotu w procesach fizjologicznych jest bardzo dobrze poznana. NO wykazuje szerokie działanie, zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i w patologii. W warunkach podstawowych komórki śródbłonna naczyń krwionośnych, neurony i makrofagi wytwarzają niewielkie ilości NO, który bierze udział w regulacji napięcia naczyń krwionośnych, przewodnictwie nerwowym, w reakcjach układu immunologicznego oraz w innych funkcjach organizmu.

W nerce NO wpływa na hemodynamikę, pośrednicząc w procesach rozkurczu naczyń krwionośnych bezpośrednio lub pośrednio np. modyfikując aktywność kanalikowo-kłębuszkowego sprzężenia zwrotnego [Majid i wsp., 1993; Wilcox, 1998] przez co wpływa na tempo filtracji kłębuszkowej oraz ilość i skład wydalanego moczu, a co za tym idzie, wpływa na bilans płynów ustrojowych. Wykazano również bezpośredni wpływ NO na procesy transportu kanalikowego. Z badań prowadzonych na izolowanych kanalikach nerkowych wynika, że uwalniany tam NO hamuje reabsorpcję sodu przyczyniając się do jego zwiększonego wydalania [Ortiz, 2002].

Tak więc po zablokowaniu aktywności NOS można oczekiwać obniżenia wydalania nerkowego. Tymczasem wielokrotnie opisywano wzrost wydalania moczu oraz sodu (natriureza) po systemowym hamowaniu aktywności syntaz, np. za pomocą niespecyficznego inhibitora L-NAME (5-50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$), po podaniu którego obserwowano również (oczekiwany) wzrost ciśnienia tętniczego krwi. Mechanizmy mediujące natriuretyczną odpowiedź na ostre, systemowe zablokowanie aktywności NOS pozostawały niejasne, a ich podłoża upatrywano we wzroście wartości ciśnienia tętniczego krwi (ang. pressure diuresis, diureza z nadciśnienia).

Jednakże w piśmiennictwie można było znaleźć badania, w których po podaniu niskich dawek L-NAME (np. 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$), obserwowano natriurezę bez wzrostu wartości ciśnienia tętniczego krwi i zmian filtracji kłębuszkowej (ang. glomerular filtration rate, GFR). Obserwowany wzrost wydalania sodu tłumaczono np. wzrostem aktywności NOS w śródmiąszku (interstitium) nerek – poziom ten był określany na podstawie zmian stężenia metabolitów tlenu azotu NO_2/NO_3 [Liang i wsp. 2001].

W badaniach przedstawionych w *publikacji nr 2* zbadano efekty zablokowania aktywności syntaz NO (NOS), na nerkowe wydalanie jonów sodu i potasu, przy pomocy różnych dawek nieselektywnego inhibitora L-NAME (5-50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) które były dobrane tak, by nie wywołać większych niż kilka mmHg zmian ciśnienia perfuzyjnego nerki (ang. renal perfusion pressure, RPP); w części eksperymentów było ono regulowane przez manipulowanie zaciskiem umieszczonym na aorcie powyżej tętnicy nerkowej. W badaniach tych zaobserwowano, że przy braku zmian w wartościach ciśnienia tętniczego krwi, L-NAME obniżało znamienne przepływ krwi przez nerkę, zarówno w obszarze kory, jak i rdzenia oraz zwiększało wydalanie nerkowe.

Obserwowane zmiany w ukrwieniu nerki (krążeniu korowym i rdzeniowym) mogły przyczynić się również do występowania zmian w wydalaniu wody i jonów (głównie sodu i potasu). Jednak przeciwko takiej interpretacji przemawia fakt, że zmiany w krążeniu nerkowym obserwowano znacznie wcześniej niż te w wydalaniu. Ponadto, obniżenie ukrwienia rdzenia nerki sugeruje, że obserwowana natriureza wystąpiła niezależnie od zmian ukrwienia rdzenia nerki, zmiany obserwowane w tym obszarze naczyniowym mogłyby raczej powodować obniżenie wydalania sodu, niż jego zwiększenie.

Analiza wyników wykazała silną pozytywną korelację między zastosowaną dawką L-NAME i wzrostem wydalania sodu, a brak takiej korelacji ze zmianami w wartościach ciśnienia tętniczego krwi czy tempie filtracji kłębuszkowej (GFR). Wskazuje to jednoznacznie, że natriureza była wynikiem zablokowania kanalikowej reabsorpcji sodu przy udziale mechanizmów niezwiązanych z diurezą z nadciśnienia (*pressure diuresis*).

Tak więc wywołana podaniem L-NAME natriureza, wydawała się nie być prostym wynikiem braku działania tlenu azotu na transport kanalikowy, ale raczej efektem działania inhibitora NOS na systemowe czynniki (być może hormonalne), które następnie w istotny sposób wpływały na procesy transportu kanalikowego (reabsorpcję wody, jonów). Również różnica w czasie między zmianami w ukrwieniu nerki (RBF, CBF, MBF) a zmianami wydalania sodu, sugerowała, iż obserwowana odpowiedź natriuretyczna miała pochodzenie pozanerkowe. Rozważając możliwe mechanizmy odpowiedzialne za obserwowaną natriurezę, naszą uwagę przyciągnęły badania wskazujące, że zablokowanie aktywności NO zwiększa uwalnianie przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ang. atrial natriuretic peptide, ANP) z izolowanych przedsionków serc szczurzych [Sanchez-Ferrer i wsp., 1990]. Dodatkowo naszą ideę potwierdzają wyniki badań zaprezentowane przez Leskinen i wsp. (1995), którzy przedstawili w swoich badaniach wzrost poziomu ANP w odpowiedzi na infuzję L-NAME. Skurcz obwodowych naczyń krwionośnych, w szczególności naczyń pojemnościowych (ang. capacitance vessels), spowodowany blokadą aktywności NOS, mógł być odpowiedzialny za obniżenie przepływu krwi przez główne pojemnościowe naczynia krwionośne i powodować zwiększenie powrotu żylnego, zwiększenie wartości ciśnienia w „prawym sercu”, nawet bez wzrostu wartości ciśnienia tętniczego krwi, a przez to wpływać na uwolnienie ANP.

W niniejszej pracy wykazano, że systemowe podawanie inhibitora NOS, w dawce wywołującej umiarkowany wpływ na ciśnienie tętnicze krwi oraz na hemodynamikę nerek, prowadzi do wzrostu osocznego poziomu ANP, co następnie może powodować wzrost nerkowego wydalania sodu, w wyniku hamowania reabsorpcji kanalikowej [Majid, 2001; Ortiz, 2001]. Takiego mechanizmu wystąpienia zjawiska natriurezy dowiodły nasze badania z zastosowaniem blokera receptorów ANP (Anantin, Bachem, Szwajcaria) podanego w infuzji w momencie wystąpienia diurezy i natriurezy, spowodowanej podaniem L-NAME. Podanie Anantin,

powodowało obniżenie nasilenia diurezy zależnej od L-NAME i powrót wartości tych parametrów do poziomu wartości kontrolnych, bez wpływu na wartości ciśnienia tętniczego krwi lub ukrwienia kory nerki (CBF). Dodatkowe badania wykazały, że jednoczesna infuzja Anantinu i L-NAME zapobiegała wystąpieniu wzrostu wydalania sodu, nawet mimo wzrostu wartości ciśnienia tętniczego krwi.

Tak więc, uzyskane w tej pracy wyniki pozwalają wysnuć wniosek, że nawet niewielkie systemowe zmiany syntezy NO (zależne od aktywności NOS) nie wywołujące zmian w ciśnieniu tętniczym krwi, mogą wpływać na odpowiedzialne za wydalanie nerkowe procesy transportu kanalikowego. Najprawdopodobniej odbywa się to za pośrednictwem pozanerkowych czynników natriuretycznych, takich jak np. ANP.

NO odgrywa również znaczącą rolę w procesach neurotransmisji i patologii układu nerwowego. Czynniki neurogenne odgrywa ważną rolę w patogenezie nadciśnienia tętniczego u części chorych z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym. Świadczy o tym związek pomiędzy wartościami ciśnienia tętniczego krwi, a napięciem emocjonalnym i stresogennym trybem życia oraz w przypadku procesów bólowych. Uważa się, że peptydy opioidowe mają nie tylko działanie przeciwbólne, ale uczestniczą też w regulacji ciśnienia tętniczego krwi za pośrednictwem trzech głównych grup receptorów: μ , δ , κ , których rozmieszczenie w ośrodkowym układzie nerwowym jest zróżnicowane. Badania doświadczalne i obserwacje kliniczne wskazują, że peptydy opioidowe wywierają złożony wpływ na czynność układu krążenia (w tym na krążenie nerkowe). Obecność opioidów, a także poszczególnych receptorów, udokumentowano w narządach obwodowych: nadnerczach, nerkach, układzie pokarmowym, sercu i płucach, [Tang i *wsp.*, 1982; Shimosegawa i *wsp.*, 1990; Wittert i *wsp.*, 1996]; występują one tam mniej licznie niż w układzie nerwowym. Liczne badania kliniczne wskazują na udział czynnika nerwowego w rozwoju nadciśnienia tętniczego. O jego znaczeniu świadczy fakt, że leki hamujące aktywność układu współczulnego wywierają efekt hipotensyjny u chorych z nadciśnieniem tętniczym.

W *publikacji numer 2* badano rolę tlenu azotu w procesie kontroli funkcji nerki i ciśnienia tętniczego krwi podczas stymulowania aktywności receptorów opioidowych. Wykazano, że jednorazowe podanie systemowe syntetycznego agonisty receptorów μ -opiodowych (H-Tyr-D-AlaPhe-Phe-NH₂([D-Ala²]-Endomorphine₂, TAPP) ma szybki choć przejściowy efekt hipotensyjny. Zachęcona danymi literaturowymi, sugerującymi zaangażowanie w ten proces tlenu azotu, zastosowałam w badaniach pomiar siły sygnału NO *in situ* w tkance nerki szczura, świadczący o jego biodostępności.

Wykazano, że u uśpionych (narkotyzowanych) normotensyjnych szczurów, długotrwała infuzja TAPP powoduje początkowo umiarkowane, ale postępujące i nasilające się obniżenie wartości ciśnienia tętniczego krwi. Co ważne, zmiany takiej nie obserwowano, jeśli wcześniej podano antagonistę receptorów opioidowych Naloxon. Obserwowany wydłużony efekt hipotensyjny TAPP nie był połączony z obniżeniem częstości skurczów serca (ang. heart rate, HR), w odróżnieniu od ostrego efektu, podczas którego obniżeniu ciśnienia tętniczego krwi towarzyszyło znaczne obniżenie HR. Tak więc można przypuszczać, że efekt hipotensyjny był bezpośrednim następstwem stymulacji receptorów μ -opiodowych.

Ważnym odkryciem badań było udokumentowanie, że nasilający się hipotensyjny efekt TAPP był powiązany ze znacznym wzrostem tkankowego sygnału NO mierzonego w rdzeniu nerki. Jak

już wspomniano, rdzeń nerki jest obszarem o wysokiej ekspresji NOS. Po raz pierwszy przedstawiono bezpośrednie dowody, że systemowo podany TAPP powoduje wzrost biodostępności tlenu azotu w tym obszarze nerki. Co prawda badania dotyczące tlenu azotu prowadzono tylko w nerce, ale trudno przypuszczać, że zmiany biodostępności NO dotyczyły wybiórczo tylko tego narządu. Uzyskane dane wskazują, że hipotensyjny efekt działania TAPP był wynikiem rozszerzenia naczyń krwionośnych (wazorelaksacji) w innych, niż nerkowe (brak zmian w RBF czy CBF), łożyskach naczyniowych, co spowodowało obniżenie całkowitego oporu naczyniowego i w konsekwencji hipotensję.

Drugi nurt prezentowanych badań skupia się wokół wpływu NO i metabolitów AA zależnych od CYP-450 na funkcje nerek, w warunkach nadciśnienia tętniczego indukowanego u zwierząt normotensyjnych dietą wysokosodową, publikacje numer: 4, 5.

Dominująca rola nerki w kontroli ciśnienia tętniczego krwi jest od lat forsowana przez zwolenników teorii Guytona, według której wzrost ciśnienia krwi umożliwia zwiększenie wydalania wody i sodu, co w konsekwencji skutkuje zmniejszeniem objętości wewnątrznacyniowej i może prowadzić do normalizacji ciśnienia tętniczego krwi. Zjawisko to określane jest jako diureza i natriureza z nadciśnienia (ang. pressure diuresis and natriuresis).

Obok teorii Guytona odnośnie udziału nerek w kontroli ciśnienia tętniczego krwi, wielu badaczy [Mattson i wsp., 1993; Majid i wsp., 1997] uważa, że rdzeń nerki czynnie uczestniczy w kontroli ciśnienia tętniczego krwi. Jednak wyniki badań prowadzonych w naszym Zakładzie, w tym ujęte w cyklu habilitacyjnym (publikacja numer 5), prezentują wyniki sprzeczne z teoriami odnoszącymi się do kluczowej roli ukrwienia rdzenia nerki w kontroli ciśnienia tętniczego krwi. Również w badaniach Bądryńska i wsp., 2019, przedstawiono argumenty na to, że doświadczalne chroniczne podwyższenie perfuzji rdzenia nerki u zwierząt w trzech różnych zwierzęcych modelach nadciśnienia tętniczego nie spowodowało obniżenia wartości ciśnienia tętniczego krwi.

W badaniach tej części cyklu (publikacje numer 4, 5) skupiłam się na wpływie podaży sodu w diecie i roli metabolitów kwasu arachidonowego lub tlenu azotu w regulacji czynności nerek oraz ciśnienia tętniczego krwi. W publikacjach tych poruszałam problem wpływu wysokiego spożycia sodu zarówno na szlak powstawania metabolitów kwasu arachidonowego jak i tlenu azotu. W wielu wcześniejszych badaniach stwierdzono zależność między spożyciem sodu a aktywnością szlaków metabolicznych. Z wielu badań wynika, że zwiększona podaż sodu w diecie prowadzi do podwyższonej ekspresji wszystkich trzech izoform NOS w rdzeniu nerki, natomiast w położonej w korze płamce gęstej (*macula densa*) zarówno obniżenie, jak i zwiększenie spożycia sodu podwyższa aktywność nNOS [Wilcox i wsp., 1998]. Trzeba zaznaczyć, iż wzrost aktywności syntaz NO nie zawsze przekłada się na wzrost biodostępności NO, brak podwyższenia biodostępności NO może zależeć m.in. od szybszego przekształcania NO w ROS.

Metabolity AA (ang. Arachidonic Acid, kwas arachidonowy) zależne od szlaku CYP-450, czyli szlaku epoksygenacji (ang. epoksyicozatrienoic acids, EET's), jak i szlaku hydroksylacji (np. 20-HETE), w sposób hamujący wpływają na transport kanalikowy (powodują wzrost wydalania sodu), obie grupy związków mają działanie wazoaktywne, natomiast wykazują przeciwstawne

działania na naczynia. Związki typu EET's wykazują działanie naczyniorozszerzające, natomiast typu HETE, których przykładem jest 20-HETE, działają naczyniokurcząco.

Również aktywność enzymów szlaku monoooksygenacji AA zależnej od CYP-450 jest modyfikowana przez podaż sodu. W wielu badaniach stwierdzono zależność pomiędzy dostawą sodu a aktywnością szlaków przemian AA. Wykazano, że aktywność białka CYP2C i ilość metabolitów powstających w szlaku epoksygenacji AA wzrastają w nerce w odpowiedzi na zwiększoną podaż sodu [Imig, 2005, Capdevila i wsp., 2001, Makita i wsp., 1994 oraz Zhao i wsp., 2003]. Z kolei Roman i wsp., 2002 w badaniu u szczurów utrzymywanych na diecie wysokosodowej stwierdzili obniżenie aktywności enzymów odpowiedzialnych za syntezę 20-HETE.

W publikacji numer 4 cyklu habilitacyjnego wykazano, że u normotensyjnych szczurów, bez udokumentowanej sodowrażliwości, podczas 10-cio dniowej diety wysokosodowej (ang. High Salt diet, HS) występował znaczny i postępujący wzrost ciśnienia tętniczego krwi, któremu towarzyszyła zwiększona nerkowa synteza 20-HETE (potwierdzona badaniem jego wydalania nerkowego). Wzrost ciśnienia był przejściowo zahamowany przez farmakologiczną blokadę syntezy 20-HETE, co w zdecydowany sposób potwierdziło, że ten naczyniokurczący czynnik był przynajmniej w części odpowiedzialny za sodozależny wzrost ciśnienia tętniczego krwi.

Z kolei chroniczne podawanie cAUCB (w celu zahamowania rozpadu EETs) nie spowolniło wzrostu ciśnienia tętniczego krwi indukowanego podawaniem paszy HS (badania chroniczne – pomiar ciśnienia krwi na ogonie u zwierząt czuwających). Wynik ten nie popiera tezy, że sodozależna forma nadciśnienia tętniczego może zależeć od deficytu EETs. Nieselektywne zablokowanie aktywności CYP-450, przy użyciu ABT spowodowało przejściowe zahamowanie wzrostu wartości ciśnienia tętniczego krwi (u zwierząt czuwających), jednak efekt ten zanikał po 5-tym dniu obserwacji.

Wzrost tkankowej biodostępności EETs wynikający z podawania cAUCB sugerowałby wystąpienie systemowej wazodylatacji oraz zahamowania transportu kanalikowego – oba te działania potencjalnie przeciwdziałają rozwojowi nadciśnienia tętniczego krwi. Uzyskane dane nie potwierdzają również hipotezy, iż sodozależny typ nadciśnienia tętniczego może być wynikiem deficytu EETs. Reasumując, nie zaobserwowano antyhipertensyjnego działania wynikającego ze zwiększenia biodostępności EETs, natomiast wyeliminowanie efektów działania 20-HETE (naczyniokurczącego) sugeruje, że w przedstawionym układzie eksperymentalnym, rozwój sodozależnej formy nadciśnienia tętniczego, przynajmniej w jego początkowej fazie, zależy od aktywności 20-HETE.

Reaktywność nerkowych naczyń krwionośnych (będąca odzwierciedleniem stanu czynnościowego tych naczyń, stopnia upośledzenia ich kondycji czy uszkodzenia) na czynniki wazoaktywne nie uległa zmianie podczas 10-cio dniowej ekspozycji szczurów na paszę HS. Natomiast wydłużenie czasu tej diety do 21 dni, spowodowało obniżenie biodostępności tlenu azotu (sygnał rdzeniowy), co było prawdopodobnie czynnikiem zaangażowanym w powstanie i rozwój utrwalonego nadciśnienia tętniczego, natomiast nie spowodowało zmiany w reaktywności naczyń nerkowych.

W publikacji numer 5 cyklu habilitacyjnego przedstawiono wyniki badań dotyczących zjawiska sodowrażliwości nadciśnienia tętniczego u szczurów ze stada *outbred* Wistar.

W nadciśnieniu tętniczym wywołanym przewlekłym spożywaniem diety wysokosodowej, podobnie jak w innych formach nadciśnienia tętniczego, podłoże oraz mechanizm rozwoju choroby może polegać na wzroście napięcia naczyń oporowych wynikającego z dysfunkcji śródbłonna naczyniowego oraz braku równowagi między naczyniokurczącym działaniem reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygene species, ROS), i naczyniorozszerzającym działaniem NO, ale też z tego, że nadmierne spożycie sodu, powoduje rozwój stresu oksydacyjnego, który może być czynnikiem sprawczym w mechanizmie rozwoju sodozależnego nadciśnienia tętniczego. Ta nierównowaga może wynikać nie tylko z gorszej zdolności śródbłonna do produkcji NO, ale też z tego, że nadmierna podaż, a co za tym idzie spożycie sodu, powoduje rozwój stresu oksydacyjnego, który może być czynnikiem sprawczym w mechanizmie rozwoju sodozależnego nadciśnienia tętniczego. Celem naszych badań (*publikacja numer 5 cyklu habilitacyjnego*) było sprawdzenie, czy rozwój sodozależnej formy nadciśnienia tętniczego, będzie złagodzony chroniczną suplementacją samej L-argininy (L-arg), bądź w połączeniu z kofaktorem reakcji syntezy NO tetrahydrobiopteryną (BH₄). Uważa się, że to niedobory obu tych substancji mogą być bezpośrednią przyczyną upośledzonej syntezy NO [Ni i wsp., 2001], co w konsekwencji prowadzi do rozwoju nadciśnienia tętniczego. Zbadałam wpływ suplementacji L-arg i BH₄ na całkowite oraz na regionalne ukrwienie nerki (ze szczególnym uwzględnieniem rdzenia nerki) oraz reaktywność naczyń nerkowych. Reaktywność badałam stosując krótkie, donerkowe (bezpośrednio do tętnicy nerkowej) wlewy substancji naczyniokurczącej - norepinefryny (NE) lub naczyniorozszerzającej - acetylocholinie (ACh) i obserwując ich efekty na perfuzję poszczególnych obszarów nerki.

Zależne od suplementacji L-arg zwiększenie biodostępności NO w tkance nerki wydaje się, na tyle silne, że dalszy wzrost dostawy NO, spowodowany przez donerkową infuzję ACh wywołał jedynie nieznaczne rozszerzenie naczyń nerkowych. Dodatkowa suplementacja BH₄ nie wzmocniła tego efektu L-arg.

Niezależnie od długości ekspozycji zwierząt na spożycie wysokiej ilości sodu (10 lub 26 dni ekspozycji) nadciśnienie tętnicze było złagodzone tylko w niewielkim stopniu przez chroniczną suplementację L-arg i BH₄. Przyczynę braku spodziewanego efektu tego można upatrywać w opisywanym w piśmiennictwie zjawisku, że podczas zwiększonej podaży sodu w diecie może dochodzić do zwiększonej syntezy wolnych rodników [Edwards, 2015]. Paradoksalnie źródłem ROS może być sam NO (powstający głównie za pośrednictwem nNOS), który podlega procesowi rozszczepienia (ang. uncoupling), co prowadzi do obniżenia biodostępności NO, nawet w warunkach jego normalnej a nawet podwyższonej syntezy.

W stosowanym w moich badaniach modelu sodozależnego nadciśnienia tętniczego przyczyną wzrostu ciśnienia tętniczego krwi mogłaby być wzmożona retencja sodu, jednakże u tych zwierząt poziomu sodu w osoczu (P_{Na}) nie był podwyższony. Zjawisku retencji mógł przeciwdziałać, przynajmniej w części, obserwowany wzrost wydalania nerkowego. Co więcej, inni badacze wykazali zależną od spożycia diety wysokosodowej zwiększoną zawartość sodu w przestrzeniach pozakomórkowych innych niż osocze krwi [Titze, 2015; Jantsh i wsp., 2015].

We wcześniejszych badaniach prowadzonych w macierzystym Zakładzie wykazano, że u szczurów utrzymywanych na diecie o standardowej zawartości sodu biodostępność tlenu azotu jest znacznie wyższa w rdzeniu nerki niż w korze, natomiast ulega ona obniżeniu w warunkach wysokiej podaży sodu. nNOS jest izoformą syntazy NO, której aktywność/ekspresja w rdzeniu nerki jest najwyższa spośród wszystkich trzech izoform NOS. Jak wspomniano wyżej, w

piśmiennictwie opisywano, że dieta HS sprzyja zjawisku *uncoupling*, tak więc, brak równowagi w stosunku NO:ROS w sodozależnej formie nadciśnienia tętniczego mógłby być wyraźniej zaznaczony w naczyniach nerkowych niż w innych łożyskach naczyniowych.

W swoich badaniach wykazałam, że suplementacja L-arg, chociaż tylko umiarkowanie zwiększyła całkowity przepływ krwi przez nerkę (RBF) i ukrwienie kory nerki (CBF), to znacząco zwiększyła perfuzję rdzenia nerki w obszarze rdzenia wewnętrznego (IMBF), co sugeruje lokalną poprawę biodostępności NO. Jednakże to pozytywne zjawisko było prawdopodobnie ograniczone jedynie do obszaru rdzenia nerki i nie mogło wpłynąć w istotny sposób na obniżenie wartości ciśnienia tętniczego krwi.

Trzeci nurt badań, został poświęcony badaniu interakcji systemów parakrynych (metabolitów kwasu AA zależnych od CYP-450, adenozyne i jej receptorów oraz NO) w kontroli hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek; z przeglądu piśmiennictwa wynikało, że dieta wysokosodowa lub przewlekła hiperglikemia modyfikują rolę tych czynników i ich interakcje w nerce.

Jak już zaznaczono, zarówno NO, jak i zależne od CYP-450 metabolity AA przez swój wpływ na czynność hemodynamiczną i wydalniczą nerki, odgrywają istotną rolę w kontroli ciśnienia tętniczego krwi. Również adenozyne (metabolit ATP) wpływa na te procesy za pośrednictwem receptorów zlokalizowanych zarówno w naczyniach jak i w kanalikach nerkowych. W większości łożysk naczyniowych adenozyne wykazuje działanie naczyniorozszerzające. Natomiast w nerce może indukować zarówno skurcz, jak i rozszerzenie naczyń krwionośnych, a zależy to od tego, który typ zależnych od adenozyne receptorów purynowych P1 (P1R) został pobudzony (A1R czy A2R). Również kierunek wpływu na wydalanie nerkowe, (obniżenie lub wzrost), zależy od tego czy w kanalikach nerkowych pobudzony został odpowiednio, receptor A1 lub A2.

Między wspomnianymi systemami parakrynymi zachodzi czynnościowa współzależność m.in. odpowiedzialna za regulację czynności nerek. I tak np. wiadomo, że efektem stymulacji receptorów A2 może być aktywowanie śródłonkowego i kanalikowego metabolizmu AA w szlaku zależnym od CYP-450 lub syntezy NO.

W publikacji *numer 3 cyklu habilitacyjnego* skupiono się na zbadaniu interakcji między metabolitami AA zależnymi od CYP450 a receptorami A2 w regulacji hemodynamiki nerek i procesów wydalniczych. Z piśmiennictwa wiadomo, że zwiększone spożycie soli wpływa pobudzająco na oba systemy parakryne w nerce. Wykazywano, że wysoka zawartość sodu w podawanej szczurom paszy powodowała wzrost nerkowej syntezy adenozyne oraz wpływała na stosunek receptorów adenozynowych A2R/A1R (tj. na diecie sodowej ekspresja A2R ulega zwiększeniu, podczas gdy A1R obniżeniu).

We wcześniejszych badaniach prowadzonych w naszym Zakładzie [Dobrowolski i wsp., 2007] wykazano, że egzogenna adenozyne (ADO) powoduje wzrost ukrwienia zarówno kory, jak i rdzenia nerki u szczurów otrzymujących przewlekłe paszę o wysokiej (8%NaCl) zawartości

sodu, natomiast nie wywołuje żadnych zmian u szczurów utrzymywanych na diecie o niskiej (0,15%NaCl) zawartości sodu.

Stosując nieselektywną stymulację P1R przy użyciu ADO lub selektywną stymulację A2aR (przy użyciu selektywnego agonisty) wykazałam, iż w warunkach długotrwałej wysokiej podaży sodu naczyniorozszerzające i diuretyczne oraz natriuretyczne działanie receptorów A2 przeważa nad naczyniokurczącym i antydiuretycznym działaniem receptorów A1. ADO spowodowała wzrost całkowitego oraz rdzeniowego ukrwienia nerki oraz, prawdopodobnie następczo do zmian hemodynamicznych i wydalniczych, jednoczesne umiarkowane obniżenie ciśnienia tętniczego krwi.

W piśmiennictwie wskazywano, że stymulacja A2R może powodować pobudzenie zarówno śródbłonkowego jak i kanalikowego metabolizmu AA w szlaku CYP-450. Jak wspomniano wcześniej metabolity tego szlaku mają czynny wpływ na naczynia - są wazoaktywne, oraz wykazują hamujący wpływ na transport kanalikowy.

W prezentowanej pracy wykazałam, że u zwierząt karmionych paszą HS efekty ADO na perfuzję rdzenia i kory nerki oraz wydalanie nerkowe były znacząco zmniejszone po zahamowaniu aktywności szlaku CYP-450 (przy pomocy ABT, nieselektywnego inhibitora enzymów CYP450). Uzyskane wyniki sugerują, że zależne od ADO zmiany były mediowane przez metabolity AA zależne od CYP-450 (np. rozkurcz naczyń czy hamowanie transportu kanalikowego, najprawdopodobniej EETs). Również inni w badaniach prowadzonych z użyciem izolowanych nerek, wykazywali, że rosnąca koncentracja ADO aktywowała CYP-450 a efekt dodatkowo wzmacniany był przez dietę HS [Liclican i wsp., 2008].

Reasumując, uzyskane przeze mnie wyniki wskazują, że nadmierna podaż sodu w diecie modyfikuje nerkowe efekty adenozyne na krążenie krwi i wydalanie, przede wszystkim te zależne od receptorów A2, których ważnym mediatorem są zależne od CYP50 metabolity AA, prawdopodobnie EETs.

W publikacji *numer 6 cyklu habilitacyjnego* poruszyłam aspekt współdziałania NO i adenozyne w kontroli czynności hemodynamicznej i wydalniczej nerki w warunkach hiperglikemii - eksperymentalnej cukrzycy indukowanej podaniem streptozotocyny (STZ). Uważa się, że długotrwałe zwiększony poziom glikemii jest odpowiedzialny m.in. za uszkodzenie naczyń krwionośnych oraz następczą dysfunkcję wielu organów, w tym nerek. Proponowany mechanizm prowadzący do rozwoju zależnych od cukrzycy (hiperglikemii) zmian narządowych (np. nefropatia cukrzycowa w nerkach) opiera się m.in. na zmianach poziomu syntezy oraz biodostępności aktywnych czynników parakrynych, w tym systemów adenozynowego oraz tlenu azotu.

Dysregulacja nerkowej syntezy NO jest często wiązana i uważana za jedną z przyczyn patogenezy dysfunkcji nerek obserwowanej w rozwoju cukrzycy (np. nefropatii cukrzycowej). Biodostępność tlenu azotu w różnych obszarach nerki, może być zróżnicowana w zależności od etapu rozwoju choroby (cukrzycy); w początkowej jej fazie był opisywany wzrost biodostępności NO, natomiast w ustalonej fazie choroby – znaczne obniżenie jego poziomu. Dotyczy to zarówno syntezy NO, jak i ekspresji jego syntaz (NOS). Wspomniana interakcja między systemem adenozynowym a NO jest istotna również w warunkach podwyższonego poziomu glikemii (cukrzycy).

W nerce, zależne od pobudzenia receptorów A2 uwalniane NO i następczy rozkurcz naczyń krwionośnych, przeciwdziałają naczyniokurczącemu działaniu pobudzającym receptorów adenozynowych A1. Zaburzenia we współdziałaniu między receptorami adenozynowymi i tlenkiem azotu uważa się za jeden z mechanizmów prowadzących do rozwoju dysfunkcji naczyń krwionośnych i w konsekwencji zaburzeń w procesie ukrwienia nerki.

W **publikacji numer 6** w cyklu habilitacyjnego zweryfikowano także hipotezę o wpływie hiperglikemii na system adenozynowy (ADO) założono, że jego aktywność może się różnić w różnych obszarach naczyniowych nerki (korze i rdzeniu), i by to sprawdzić oddzielnie mierzyliśmy ukrwienie w tych dwóch strefach narządu. Zbadaliśmy rolę i udział wspomnianych dwóch układów parakrynych: ADO i NO w kontroli krążenia systemowego i nerkowego oraz funkcji wydalniczej nerek, porównując ich udział w tych procesach u zwierząt normoglikemicznych (NG) oraz z cukrzycą eksperymentalną (DM). Dla zweryfikowania naszych założeń, użyliśmy niespecyficznego antagonisty receptorów adenozynowych A1 i A2 - teofiliny (Theophylline, Sigma), podawanej w doświadczeniach ostrych zwierzętom z aktywnymi bądź nieaktywnymi syntazami NO; ich aktywność blokowano podając przez kilka dni przed właściwym eksperymentem inhibitor aktywności syntaz NO - L-NAME. Badania te były uzupełnione pomiarem sygnału amperometrycznego tlenku azotu w tkance nerki *in situ*, odzwierciedlającym zmiany biodostępności NO. W tej publikacji badania były skupione na porównaniu roli systemu adenozynowego i jego współdziałania ze szlakiem NO, w kontroli ciśnienia tętniczego krwi oraz funkcji hemodynamicznej i wydalniczej nerek, między szczurami normoglikemicznymi i z cukrzycą eksperymentalną. Najważniejsze wyniki zostały streszczone niżej.

1. Ważną obserwacją był fakt, że niespecyficzna blokada receptorów adenozynowych (zarówno A1R, jak i A2R), przy pomocy Theo, nie spowodowała zmian w wartościach ciśnienia tętniczego krwi u żadnej z badanych grup zwierząt. To wskazuje, że w warunkach ostrego doświadczenia (pod narkozą) nie obserwowano tonicznego wpływu układu adenozynowego na całkowity opór naczyniowy (ang. total peripheral vascular resistance, TPVR). Natomiast w odniesieniu do hemodynamiki nerek (CBF, RBF), zaobserwowano że u szczurów z aktywnymi syntazami NO, toniczny wpływ ADO na poziom ukrwienia kory nerki (CBF) oraz na RVR (ang. renal vascular resistance), nie był istotny; opisaliśmy niewielki wpływ naczyniokurczący u szczurów NG oraz naczyniorozszerzający u DM. To sugeruje pewną funkcjonalną przewagę aktywności receptorów A1 nad A2 w normoglikemii oraz stan odwrotny w sytuacji hiperglikemii (cukrzycy). Przyczyną leżącą u podstaw tych różnic w odpowiedzi na blokadę P1R, może być różnica w gęstości receptorów (A1R/A2R) między zwierzętami normoglikemicznymi i cukrzycowymi.
2. W odniesieniu do aktywności syntaz NO uzyskane wyniki wskazują, iż blokada aktywności syntaz NO spowodowała niemal identyczny wzrost wartości ciśnienia tętniczego krwi u szczurów NG, jak i DM oraz równoczesne obniżenie wartości parametrów hemodynamicznych nerki, co wskazuje również na porównywalny wzrost w wartościach nerkowego oporu naczyniowego (ang. RVR) niezależnie od stanu glikemii zwierząt. Tak więc w warunkach podstawowych (aktywny szlak adenozynowy) toniczny wpływ NO był podobny u szczurów normo- i hiperglikemicznych.

3. U szczurów pozbawionych aktywności syntaz NO, zarówno NG jak i DM, blokada aktywności receptorów adenozynowych spowodowała porównywalne rozszerzenie naczyń nerkowych – co wskazuje na podobny naczyniokurczący wpływ Ado niezależnie od stanu glikemii.
4. Nowym i nieoczekiwanym odkryciem było to, iż u wszystkich szczurów z czynnymi sytnazami NO, blokadzie receptorów P1 towarzyszył wzrost biodostępności NO w tkance rdzenia nerki. Taki efekt był niespodziewany, ponieważ zablokowanie aktywności A2R (przez Theo), powinno raczej powodować obniżenie tkankowego poziomu NO. Można przypuszczać, że u szczurów z eksperymentalną cukrzycą, nawet w warunkach zahamowania aktywności syntaz NO, obniżenie perfuzji rdzenia i zapewne anoxia tego obszaru nerki, mogły być silnym fizjologicznym bodźcem do uwolnienia NO z tkankowych „magazynów” [Stamler, 1996] albo s-nitrozotioili – głównej formy magazynowania NO w ścianie naczyń krwionośnych [Perrin-Sarrado i wsp., 2020].
5. Podwyższone wydalanie nerkowe u szczurów z cukrzycą jest prawdopodobnie następstwem zwiększonego hamowania reabsorpcji jonów i wody w kanalikach nerkowych, wynikającego ze wzrostu znaczenia receptorów natriuretycznych A2 nad antynatriuretycznymi receptorami A1, w warunkach hiperglikemii

Reasumując, przedstawione wyniki dostarczają nowych dowodów świadczących o współdziałaniu systemów ADO i NO na procesy wydalania nerkowego, również przez wpływ na zmianę nerkowego transportu kanalikowego. Ta interakcja dwóch systemów parakrynych, podobnie jak w przypadku regulacji hemodynamiki, jest modyfikowana w warunkach długotrwałej hiperglikemii.

Kuczeriszka

Nagrody:

2008 — Nagroda Dyrektora Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego dla młodego pracownika naukowego, pierwszego autora publikacji za pracę: **Kuczeriszka M.**, Bądryńska B., Kompanowska-Jezierska E. *Cytochrome P-450 monooxygenases in control of renal haemodynamics and arterial blood pressure in anaesthetised rats*. J Physiol Pharmacol 2006, 57, Supp 11, 179-185.

2010 – Nagroda za najlepszy plakat podczas International Scientific Conference Laboratory Animals the past, the present and the tomorrow on the 50th Anniversary of the Commission on Biology of Laboratory Animals, Polish Academy of Sciences activity, 9-10 września 2010, Falenty, Polska.

2010 – Zespołowa Nagroda Naukowa Wydziału Nauk Medycznych PAN za cykl prac pt. „Tlenek azotu i cytochrom P-450 w regulacji hemodynamiki i transportu kanalikowego nerek: znaczenie dla wydalania sodu i długofalowej kontroli ciśnienia tętniczego”.

2011 – stypendium/grant Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Mobilność Plus” staż podoktorski realizowany w Tulane University, School of Medicine, Department of Physiology, Nowy Orlean, USA – **kierownik projektu**.

2014 – Grant konferencyjny; Joint Meeting ESH-ISH Hypertension, Athens 2014, June 13-16, 2014, prezentacja ustna **Kuczeriszka M.**, L. Dobrowolski L. “*Vasoconstrictor effect of MRS2159, a purinoreceptor P2X1 antagonist, on renal medullary circulation is reversed in AngII- induced hypertensive rats*”.

– Nagroda za najlepszy plakat: L. Dobrowolski, A. Walkowska, **M. Kuczeriszka** “*Systemic and renal circulatory responses to purinoreceptor stimulation with adenosine diphosphate are modified in AngII-induced hypertension*”. Joint Meeting ESH-ISH Hypertension, Athens 2014, June 13-16, 2014.

2016 – Nagroda Naukowa Dyrektora Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego dla autorów publikacji o wysokim współczynniku oddziaływania za publikację: Dobrowolski L., **Kuczeriszka M.**,* Castillo A., Majid DS., Navar LG. “*Role of atrial natriuretic peptide in mediating the blood pressure-independent natriuresis elicited by systemic inhibition of nitric oxide*”. Pflugers Archiv - European Journal of Physiology 2015 Apr; 467(4):833-841. * **autor korespondencyjny**.

2018 – konkurs NCN MINIATURA 1 (DEC-2017/01/X/NZ4/02053), „*Rola angiotensyny 1-7 w mechanizmie przeciwdziałania efektom stresu oksydacyjnego w modelu cukrzycy - badania wstępne*” – **kierownik projektu**.

2019 – Nagroda za najlepszy plakat podczas VI Konferencji Polskiego Towarzystwa Nauk

o Zwierzętach Laboratoryjnych – PolLASA, „Zwierzęta w Badaniach Naukowych”,
Warszawa 9-11 września, 2019

Sitek J, Walkowska A, Dobrowolski L, **Kuczeriszka M.** *“Duration of hyperglycaemia in STZ induced diabetes determines alterations of renal haemodynamics and excretion in rats”.*

Projekty badawcze:

2011 – stypendium Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego “Mobilność Plus” staż podoktorski realizowany w Tulane University, School of Medicine, Department of Physiology, Nowy Orlean, USA – **kierownik projektu**

2018 – konkurs NCN MINIATURA 1, *„Rola angiotensyny 1-7 w mechanizmie przeciwdziałania efektom stresu oksydacyjnego w modelu cukrzycy - badania wstępne”* – **kierownik projektu**

Dydaktyka i popularyzacja nauki:

Opis aktywności

Brałam aktywny udział w powstaniu Polskiego Towarzystwa Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych – PolLASA. Jestem jednym z pomysłodawców utworzenia i członków założycieli Towarzystwa. Ponadto przez trzy kolejne kadencje (2010-2019) byłam członkiem Zarządu Towarzystwa, pełniąc funkcję sekretarza Towarzystwa. Głównym celem, zadaniem i misją PolLASA jest promowanie specjalistycznej wiedzy na temat biologii, utrzymania i hodowli zwierząt laboratoryjnych i doświadczalnych, używanych w badaniach biomedycznych. W ramach działań Towarzystwa PolLASA biorę czynny udział w propagowaniu wiedzy specjalistycznej z zakresu dobrostanu zwierząt oraz zasad etycznych pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi. Byłam członkiem komitetów naukowych i organizacyjnych konferencji naukowych organizowanych przez PolLASA w latach 2011-2019.

W latach 2018-2019 byłam przedstawicielem PolLASA i Polski w **EARA - European Animal Research Association, London**. Organizacja ta zajmuje się promowaniem wiedzy dotyczącej humanitarnego prowadzenia doświadczeń z użyciem zwierząt oraz sposobów komunikowania o tym szerokim kręgom społeczeństwa.

Moja praca zawodowa i naukowa była zawsze związana ze zwierzętami, głównie laboratoryjnymi, a praktyczne i etyczne aspekty użytkowania zwierząt laboratoryjnych w badaniach oraz pracy z nimi były zawsze ważne w mojej działalności zawodowej.

W związku z tym od 2015 roku angażowałam się, zarówno podczas działań w ramach PolLASA oraz jako członek Zespołu Doradczego ds. Dobrostanu Zwierząt przy IMDiK PAN, w promowanie praktycznego stosowania zasady 3R, ogłoszonej przez Russella i

Burcha [1959] (ang. reduction, replacement, refinement). Realizowałam to prowadząc wykłady podczas szkoleń wymaganych *Ustawą o ochronie zwierząt ... (2015)* czy podczas konferencji i spotkań naukowych PolLASA

Z kolei podczas spotkań z doktorantami Kampusu Ochota oraz Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, które prowadzę w zespole z dr Pawłem Pasieką (SGGW, KKE) i mgr inż. Krzysztofem Różyckim (IMDiK PAN), przybliżam aspekty etyczne pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi, omawiam kwestie dotyczące praktycznego stosowania zasady 3R – głównie redukcji i zastąpienia – przez przedstawienie i zachęcenie do korzystania z „bazy próbek tkanek”, nowego narzędzia umożliwiającego dzielenie się materiałem doświadczalnym, a wymaganym *Ustawą o ochronie zwierząt... (2015)* i Dyrektywą EU 63/2010.

Jestem także pomysłodawczynią projektu badawczego realizowanego aktualnie przy współpracy dr inż. Moniki Mikulskiej (SGGW) i dr hab. Joanny Czarnoty-Bojarskiej Wydział Psychologii (UW), z którą nawiązałam współpracę w ramach działań PolLASA. Projekt ten ma na celu zbadanie aspektu psychologicznego pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi, a szczególnie wypalenia zawodowego wynikającego z obcowania ze śmiercią i cierpieniem tych zwierząt, oraz jak przekłada się to, na dalszy stosunek opiekunów, hodowców i eksperymentatorów do zwierząt? Czy powoduje uwrażliwienie ich na cierpienie czy wprost przeciwnie? Badanie to jest prowadzone wśród osób zawodowo związanych z hodowlą i doświadczeniami z użyciem zwierząt, a jego wyniki zostaną przedstawione w formie 2 prac magisterskich wykonanych na Wydziale Psychologii, UW.

Przez pięć lat byłam współkoordynatorem (z dr hab. Leszkiem Dobrowolskim) wydarzeń Warszawskiego Festiwalu Nauki na terenie IMDiK PAN (byłam odpowiedzialna za zapraszanie prelegentów, organizowanie spotkań z publicznością, przygotowywanie materiałów do prasy, moderowanie spotkań festiwalowych).

Uczenie technik operacyjnych młodych osób przychodzących (uczestników studiów doktoranckich) do pracy w Zakładzie Fizjologii Nerek i Płynów Ustrojowych IMDiK PAN.

Chronologia aktywności

2010 – członek założyciel Polskiego Towarzystwa Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych PolLASA.

2010 – 2019, członek Zarządu - sekretarz generalny Polskiego Towarzystwa Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych, PolLASA (trzy kolejne kadencje).

2011 – członek Komitetu Organizacyjnego „Drugiej Konferencji Zwierzęta Laboratoryjne w Badaniach Naukowych”, 5-7 września 2011, Warszawa, Polska odpowiedzialna za zapraszanie krajowych i zagranicznych prelegentów oraz sponsorów, przygotowywanie materiałów konferencyjnych.

2013 - członek Komitetu Organizacyjnego „Trzeciej Konferencji Zwierzęta Laboratoryjne w Badaniach Naukowych”, 9-11 września 2013, Warszawa, Polska (byłam odpowiedzialna za

zapraszanie krajowych i zagranicznych prelegentów oraz sponsorów, a także przygotowywanie materiałów konferencyjnych).

2015-2019 - współkoordynator Warszawskiego Festiwalu Nauki na terenie IMDiK PAN.

2015 - członek Komitetu Naukowego „Czwartej Konferencji Zwierzęta Laboratoryjne w Badaniach Naukowych”, 7-9 września 2015, Warszawa odpowiedzialna za pomysł tematu przewodniego konferencji, zorganizowanie sesji naukowych.

od 2015 – członek Zespołu Doradczego ds. Dobrostanu Zwierząt w IMDiK im. Mirosława Mossakowskiego, PAN - doradzenie eksperymentatorom odnośnie poprawy warunków prowadzenia doświadczeń prowadzonych z użyciem zwierząt.

od 2015 – koordynator ds. Szkoleń wymaganych ustawą z dnia 15 stycznia 2015 roku o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych IMDiK im. Mirosława Mossakowskiego, PAN prowadzenie wykładów i zajęć praktycznych z postępowania ze zwierzętami laboratoryjnymi dla pracowników i doktorantów IMDiK im. M. Mossakowskiego, PAN wg programu opisanego Ustawą z dnia 15 stycznia 2015 r.

2016 – promotor/opiekun pracy dyplomowej dr Piotra Kossona i dr Anny Kosson „Zasady funkcjonowania jednostki hodowlano-doświadczalnej na przykładzie Środowiskowego Laboratorium Hodowli Zwierząt Genetycznie Modyfikowanych CMD-CePT” – semestralne studia podyplomowe w zakresie: Zwierzęta laboratoryjne-hodowla, utrzymanie i użytkowanie. Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

od 2016 - ekspert MNiSW do udziału w kontrolach użytkowników, jako pomoc dla kontrolera z ramienia Powiatowego Lekarza Weterynarii, (czynny udział w kontrolach PLW – **sierpień 2020 r.**)

2017 - członek Komitetu Naukowego „Piątej Konferencji Zwierzęta Laboratoryjne w Badaniach Naukowych”, 11-13 września 2017, Warszawa odpowiedzialna za pomysł tematu przewodniego konferencji i zorganizowanie sesji naukowych.

od 2017 – członek komisji stypendialnej PolLASA odpowiedzialna za przyznawanie stypendiów wyjazdowych i konferencyjnych dla członków PolLASA, co ma w znaczny sposób pomóc w poszerzaniu wiedzy wśród członków PolLASA.

2019 – prowadziłam wykłady i zajęcia praktyczne dla studentów Wydziału Lekarskiego Uczelni Łązarskiego w ramach szkolenia wymaganego Ustawą z dnia 15 stycznia 2015 roku.

2019 - członek Komitetu Naukowego „Szóstej Konferencji Zwierzęta Laboratoryjne w Badaniach Naukowych”, 9-11 września 2019, Warszawa odpowiedzialna za wybór tematu przewodniego konferencji (poświęcona Fiziologii i patologii układu sercowo-naczyniowego), zaproszenie krajowych i zagranicznych prelegentów, zorganizowanie sesji naukowych oraz przewodniczenie sesji w formie okrągłego stołu ds. dobrostanu zwierząt.

Załącznik nr 2. Autoreferat w języku polskim Marta Kuczeriszka

2019 – wykład podczas obrad okrągłego stołu ds. dobrostanu podczas „Szóstej Konferencji Zwierzęta Laboratoryjne w Badaniach Naukowych”, 9-11 września 2019, Warszawa.

2019 – w ramach promowania idei zasady 3R oraz praktycznego jej stosowania prowadziłam wykłady dla doktorantów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW

Kuczeriszka

Prace oryginalne:

1. **M. Kuczeriszka**, B. Bądzynska, E. Kompanowska-Jezierska. Cytochrome P-450 monooxygenases in control of renal haemodynamics and arterial pressure in anaesthetized rats. *J. Physiol.Pharmacol.* 57: 179-185, 2006 DOI: PMID: 17244949

IF=2,974//5-cio letni= 2,624

Punkty MNiSW: 20

2. L. Dobrowolski, A. Walkowska, E. Kompanowska-Jezierska, **M. Kuczeriszka**, J. Sadowski. Effects of ATP on rat renal haemodynamics and excretion: role of sodium intake, nitric oxide and cytochrome P450. *Acta Physiol (Oxf).*;189(1):77-85, 2007 DOI: 10.1111/j.1748-1716.2006.01627.x.

IF=1,602//5-cio letni= 4,889

MNiSW: 27

3. E. Kompanowska-Jezierska, H. Wolff, **M. Kuczeriszka**, J.B. Gramsbergen, A. Walkowska, E.J. Johns, P. Bie. Renal nerves and nNOS: roles in natriuresis of acute isovolumetric sodium loading in conscious rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 294 (4), R1130-R1139, 2008 DOI: 10.1152/ajpregu.00908.2007

IF=3,661//5-cio letni= 3,243

MNiSW: 32 pkt

4. E. Kompanowska-Jezierska, **M. Kuczeriszka**. Cytochrome P-450 metabolite in renal circulation and excretion – interaction with the nitric oxide (NO) system. *J Physiol*, 5 (9), 137-149, 2008 (Review) PMID: 19261977

IF=2,631//5-cio letni= 2,624

MNiSW: 32

5. **M. Kuczeriszka**, K.H. Olszyński, A. Gašiorowska, J. Sadowski and E. Kompanowska-Jezierska. Interaction of nitric oxide and the cytochrome P-450 system on blood pressure and renal function in the rat; dependence on sodium intake. *Acta Physiol (Oxf).*; 201, 493-502, 2011 DOI: 10.1111/j.1748-1716.2010.02222.x.

IF=3,090//5-cio letni= 4,889

MNiSW: 30

6. **M. Kuczeriszka**, L.Dobrowolski, A. Walkowska, J. Sadowski and E. Kompanowska-Jezierska. Adenosine effects on renal function in the rat: role of sodium intake and cytochrome P450. *Nephron Physiology* 123:1-5; 2013 DOI: 10.1159/000353705

IF=1,545//5-cio letni= 1,980

MNiSW: 30

7. Dobrowolski L., **Kuczeriszka M.**, Castillo A., Majid DS., Navar LG. Role of atrial natriuretic peptide in mediating the blood pressure-independent natriuresis elicited by systemic inhibition of nitric oxide. *Pflugers Arch* 467(4):833-41; 2015 DOI: 10.1007/s00424-014-1557-4
IF=3,654//5-cio letni= 3,142
MNiSW: 40

8. A. Walkowska, **M. Kuczeriszka**, J. Sadowski, K.H. Olszyński, L. Dobrowolski, L. Červenka, B.D. Hammock, E. Kompanowska-Jeziarska. High salt intake increases blood pressure in normal rats: putative role of 20-HETE and no evidence on changes in renal vascular reactivity. *Kidney and Blood Pressure Research* 40(3):323-34; 2015. DOI: 10.1159/000368508
IF=2,908//5-cio letni= 2,057
KBN/MNiSW: 25 pkt

9. **Kuczeriszka M.**, Lipkowski AW, Sadowski J, Kompanowska-Jeziarska E. An endomorphine analog ([d-Ala²]-Endomorphin 2, TAPP) lowers blood pressure and enhances tissue nitric oxide in anesthetized rats. *Pharmacol Rep* 6;68(3):616-619; 2016 DOI: 10.1016/j.pharep.2016.01.007
IF=2,587//5-cio letni= 2,829
MNiSW: 25 pkt

10. **Kuczeriszka M.**, Dobrowolski L, Walkowska A, Sadowski J Influence of P2X receptors on renal medullary circulation is not altered by angiotensin II pretreatment. *Pharmacol Rep.* 68:1230–1236; 2016 DOI: 10.1016/j.pharep.2016.07.012
IF=2,587//5-cio letni= 2,829
MNiSW: 25

11. Prieto MC, Reverte V, Mamenko M, **Kuczeriszka M.**, Veiras LC, Rosales CB, McLellan M, Gentile O, Jensen VB, Ichihara A, McDonough AA, Pochynyuk OM, Gonzalez AA. Collecting duct prorenin receptor knockout reduces renal function, increases sodium excretion, and mitigates renal responses in ANG II-induced hypertensive mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1;313(6):F1243-F1253; 2017 DOI: 10.1152/ajprenal.00152.2017
IF=3,164//5-cio letni= 3,461
MNiSW: 40

12. **Kuczeriszka M**, Kompanowska-Jeziarska E, Sadowski J, Prieto M, Navar LG. Modulating role of Ang1-7 in control of blood pressure and renal function in AngII-infused hypertensive rats. *Am J Hypertens.* 10;31, 504-511, 2018 10. DOI: 10.1093/ajh/hpy006.

IF=2,530//5-cio letni= 3,105

MNiSW: 35

13. **Kuczeriszka M**, Walkowska A, Olszynski KH, Rafalowska J, Sadowski J, Kompanowska-Jeziarska E. Arginine and tetrahydrobiopterin supplementation in rats with salt-induced blood pressure increase: minor hypotensive effect but improvement of renal haemodynamics. *J Physiol Pharmacol.* 2019 70(2). DOI:10.26402/jpp.2019.2.05

IF=2,644//5-cio letni= 2,624

MNiSW: 70

14. Anna Kosson, Piotr Kosson, **Marta Kuczeriszka** Procedury awaryjne w celu zapewnienia dobrostanu zwierząt laboratoryjnych. Przykład Zwierzętarni Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN. *Przegląd Hodowlany* 4, str. 29-33; 2020

IF=-//5-cio letni= -

MNiSW: 5

15. **Marta Kuczeriszka**, Joanna Dorota Sitek, Agnieszka Walkowska, Janusz Sadowski, Leszek Dobrowolski. Interplay of the adenosine system and NO in control of renal haemodynamics and excretion: comparison of normoglycaemic and streptozotocin diabetic rats. *Nitric Oxide* 1;104-105:20-28; 2020 DOI: 10.1016/j.niox.2020.08.003.

IF=3,311//5-cio letni= 3,511

MNiSW: 100

Indeks Hirsha: 7

Kuczeriszka

Referencje:

1. Bączyńska B, Baranowska I, Gawryś O, Sadowski J. Evidence against a crucial role of renal medullary perfusion in blood pressure control of hypertensive rats. *J Physiol.* 597(1):211-223. doi: 10.1113/JP276342, 2019
2. Capdevila JH, Falck JR. The CYP-450 arachidonic acid monooxygenases: from cell signaling to blood pressure regulation. *Biochem Biophys Res Commun* 285: 571-576, 2001
3. Edwards DG, Farquhar WB. Vascular effects of dietary salt. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 24: 8-13, 2015
4. Dobrowolski L, Walkowska A, Kompanowska-Jeziarska E, Kuczeriszka M, Sadowski J. Effects of ATP on rat renal haemodynamics and excretion: role of sodium intake, nitric oxide and cytochrome P450. *J Acta Physiol (Oxf).* 189(1):77-85, 2007
5. Grzelec-Mojzesowicz M, Sadowski J. Renal tissue NO and intrarenal haemodynamics during experimental variations of NO content in anaesthetised rats. *J Physiol Pharmacol.* 58:149-163, 2007
6. Imig JD. Epoxide hydrolase and epoxygenase metabolites as therapeutic targets for renal disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 289:F496-F503, 2005
7. Jantsch J, Schatz V, Friedrich D, et al. Cutaneous Na⁺ storage strengthens the antimicrobial barrier function of the skin and boosts macrophage-driven host defense. *Cell Metab.* 21: 493-501, 2015
8. Leskinen H, Vuolteenaho O, Leppaluoto J, Ruskoaho H. Role of nitric oxide on cardiac hormone secretion: effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester on atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide release. *Endocrinology.* 136:1241-1249, 1995
9. Liang M, Berndt TJ, Knox FG. Mechanism underlying diuretic effect of L-NAME at a subpressor dose. *Am J Physiol Ren Physiol.* 281:F414-F419, 2001
10. Liclican E. L., McGiff J. C., Falck J. R., Carroll M.A. Failure to upregulate the adenosine2A receptor-epoxyeicosatrienoic acid pathway contributes to the development of hypertension in Dahl salt-sensitive rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 295(6):F1696-704. DOI: 10.1152/ajprenal.90502.2008, 2008
11. Majid DS, Navar LG. Nitric oxide in the control of renal hemodynamics and excretory function. *Am J Hypertens.* 14:74S-82S. doi: 10.1016/S0895-7061(01)02073-8, 2001
12. Majid DS, Navar LG. Nitric oxide in the mediation of pressure natriuresis *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 24(8):595-9, 1997

13. Majid D.S.A, Williams A., Kadowitz P.J., Navar L.G. Renal responses to intra-arterial administration of nitric oxide donors in dogs. *Hypertension*. 22: 535-541, 1993
14. Majid DS, Navar LG. Nitric oxide in the control of renal hemodynamics and excretory function. *Am J Hypertens*. 14:74S-82S, 2001
15. Mattson DL, Lu S, Roman RJ, Cowley AW Jr. Relationship between renal perfusion pressure and blood flow in different regions of the kidney. *Am J Physiol*. 264(3 Pt 2):R578-83, 1993
16. Ni Z, Vaziri ND. Effect of salt loading on nitric oxide synthase expression in normotensive rats. *Am J Hypertens*. 14: 155-163, 2001
17. Ortiz PA, Garvin JL. Role of nitric oxide in the regulation of nephron transport. *Am J Physiol Ren Physiol*. 282:F777-F784, 2002
18. Ortiz PA, Garvin JL. Role of nitric oxide in the regulation of nephron transport. *Am J Physiol Ren Physiol*. 282:F777-F784, 2002
19. Perrin-Sarrado C., Zhou Y., Salgues V., Parent M., Giummelly P., *et al.* S-Nitrosothiols as potential therapeutics to induce a mobilizable vascular store of nitric oxide to counteract endothelial dysfunction. *Biochem. Pharmacol.* 173; 113686, 2020
20. Roman RJ. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev*. 82:131-185, 2002
21. Sanchez-Ferrer CF, Burnett JC, Jr, Lorenz RR, Vanhoutte PM. Possible modulation of release of atrial natriuretic factor by endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol*. 259:H982-H986, 1990
22. Shimosegawa T, Foda HD, Said SI. [Met]enkephalin Arg6-Gly7-Leu8-immunoreactive nerves in guinea-pig and rat lungs: distribution, origin and coexistence with vasoactive intestinal polipeptide immunoreactivity. *Neuroscience*. 36: 737-750, 1990
23. Stamler J.S., Pianadosi C.A.. O=ONO: it's CO J. *Clin. Invest*. 97, 2165-2166, 1996
24. Tang J, Yang H-YT, Costa E. Distribution of met5-enkephalin-Arg6-Phe7 (MEAP) in various tissues of rats and guinea pigs. *Life Sci*. 31: 2303-2306, 1982
25. Titze J. A different view on sodium balance. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 24: 14-20, 2015

26. Walkowska A., Kuczeriszka M., Sadowski J., Olszyński K.H., Dobrowolski L., Červenka L., Hammock B.D., Kompanowska-Jeziarska E.. High salt intake increases blood pressure in normal rats: putative role of 20-HETE and no evidence on changes in renal vascular reactivity. *Kidney and Blood Pressure Research*. 40(3):323-34. DOI: 10.1159/000368508, 2015
27. Wilcox C.S. Role of macula densa NOS in tubuloglomerular feedback. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 7: 443-449, 1998
28. Wittert G, Hope P, Pyle D. Tissue distribution of opioid receptor gene expression in the rat. *Bioch Biophys Res Commun*. 218: 877-881, 1996
29. Zhao X, Pollock DM, Inscho EW, Zeldin DC, and Imig JD. Decreased renal CYP2C enzymes and impaired vasodilation are associated with salt-sensitive hypertension. *Hypertension*. 41: 709-714, 2003
30. Zhao X, Pollock DM, Zeldin DC, and Imig JD. Salt-sensitive hypertension after exposure to angiotensin is associated with an inability to upregulate renal epoxygenases. *Hypertension* 42: 775-780, 2003

Kuczeriszka