

## Recenzja rozprawy doktorskiej

Lek. med. Małgorzaty Agnieszki Rudzińskiej, zatytułowanej: **„Stężenie witaminy D i białka wiążącego witaminę D (VDBP) u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym”**

Niedobór witaminy D wiąże się ze wzrostem częstości incydentów sercowo-naczyniowych i wzrostem śmiertelności ogólnej. Z uwagi na narastający problem często niedostrzegany przez klinicystów opiekujących się chorymi z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, wybór tematu rozprawy jest słuszny a analiza stężenia witaminy D i białka wiążącego witaminę D (VDBP) u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym wnosi ciekawe wnioski mające na uwadze konieczność wdrożenia spersonalizowanych interwencji dotyczących suplementacji i monitorowania stężeń witaminy D.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani Małgorzaty Agnieszki Rudzińskiej zatytułowana **„Stężenie witaminy D i białka wiążącego witaminę D (VDBP) u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym”** ma 124 stron wydruku komputerowego, podzielonego na 11 rozdziałów, w tym wykaz stosowanych skrótów, podsumowanie w postaci streszczenia w języku polskim i języku angielskim najważniejszych wyników badawczych. W pracy zamieszczono 29 tabel oraz 47 rycin. Piśmiennictwo liczy 135 pozycji.

W liczącym 21 stron *Wstępie* Doktorantka w sposób obszerny przedstawiła charakterystykę i syntezę witaminy D, mechanizm działania, znaczenie niedoboru witaminy D w chorobach układu sercowo-naczyniowego, w tym nadciśnienia tętniczego, potencjalny

Katarzyna Kozłowska

wpływ suplementacji witaminy D jako element terapii nadciśnienia tętniczego, wytyczne dotyczące zasad suplementacji witaminy D. Ponadto Doktorantka opisała białko wiążące witaminę D (VDBP) i jego funkcje, polimorfizm genu białka VDBP, rolę receptora witaminy D (VDR) oraz jego znaczenie dla układu sercowo-naczyniowego.

Cenne jest opisanie przez Kandydatki wpływu witaminy D na etiopatogenezę nadciśnienia tętniczego oraz na stężenie krążącej angiotensyny i aktywność reniny, które są odwrotnie proporcjonalne do stężenia  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , a suplementacja witaminy D przyczynia się do obniżenia stężeń zarówno reniny, jak i angiotensyny II w surowicy krwi. Ponadto Doktorantka omówiła wytyczne dotyczące zasad suplementacji witaminy D w zależności od grup wiekowych oraz wpływu suplementacji witaminy D na nadciśnienie tętnicze na podstawie dostępnego piśmiennictwa. Następnie Autorka omówiła wpływ witaminy D na mechanizmy patogenetyczne będące podłożem rozwoju cukrzycy typu 2 i zespołu metabolicznego. Doktorantka opisała białko wiążące witaminę D (VDBP) i jego funkcje biologiczne z implikacjami klinicznymi pomiaru stężenia VDPB w surowicy. Ponadto Kandydatka opisała polimorfizm genu VDPB. Niezwykle cenne jest omówienie przez Autorkę budowy i mechanizmu aktywacji receptora witaminy D (VDR), jego plejotropowego działania oraz znaczenia aktywacji receptora witaminy D w układzie sercowo-naczyniowym. Na uwagę zasługuje fakt wyboru tematu przez Doktorantkę z uwzględnieniem oznaczeń i korelacji VDBP. W dostępnej literaturze jest niewiele doniesień na temat stężeń białka wiążącego witaminę D (VDBP) oraz jego korelacji z innymi parametrami u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. Z uwagi na niejasne znaczenie witaminy D w patogenezie nadciśnienia tętniczego wybór tematu rozprawy jest ze wszech miar słuszny.

Wstęp dowodzi znajomości Doktorantki na temat aktualnych danych dotyczących znaczenia witaminy D, białka wiążącego witaminy oraz receptora witaminy D.

*Cele pracy* zostały sformułowane jasno i czytelnie pod postacią 5 celów szczegółowych. Na szczególną uwagę zasługuje ocena stężenia receptora witaminy D (VDR) i aktywnego metabolitu witaminy D  $-1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  w grupie badanej oraz korelacja względem wybranych parametrów klinicznych, laboratoryjnych oraz chorób współistniejących a także ocena korelacji stężenia witaminy D i białka wiążącego witaminę D u pacjentów z grupy badanej, stosujących suplementację witaminy D.

Przedstawione w rozdziale 3 *Material i metody badawcze* badanie uzyskało akceptację Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (*Uchwała nr: R-I-002/238/2011*).

Katarzyna Krzawuska



Badaniem objęto 185 pacjentów (mediana wieku pacjentów w grupie badanej wynosiła 59 lat (min. 33; max. 86); 45,7% badanych stanowili mężczyźni, a 54,3 % kobiety) z rozpoznany pierwotnym nadciśnieniem tętniczym (mediana wywiadu nadciśnienia tętniczego w badanej populacji wynosiła 8 lat (min 0,01; max 34), którzy pozostawali pod opieką Akademickiej Praktyki Medycyny Rodzinnej w Białymstoku.

Grupę referencyjną stanowiło 56 osób bez nadciśnienia tętniczego, nie leczących się z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego (mediana wieku w grupie referencyjnej wyniosła 49,5 lat (max. 65lat min. 19 lat)).

Badanie było przeprowadzone w okresie od lutego do czerwca 2019r. Na udział w projekcie wszyscy pacjenci wrzili pisemną, świadomą zgodę. Chorzy wypełnili autorską ankietę uwzględniającą wiek, płeć, wzrost, masę ciała, występowanie i rodzaj chorób przewlekłych, przyjmowane leki, narażenie na dym papierosowy, suplementację preparatami witaminy D.

Wymagane dane dotyczące chorób układu sercowo-naczyniowego (nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa, niewydolność serca), występowania i rodzaju chorób przewlekłych, przyjmowanych leków, narażenia na dym papierosowy, suplementacji preparatami witaminy D Kandydatka zebrała na podstawie wywiadu i analizy dostępnej dokumentacji medycznej. Podczas wizyty Chorego w Poradni Doktorantka przeprowadziła pomiary gabinetowe ciśnienia tętniczego, zaleciła kontrolę wartości ciśnienia w warunkach domowych oraz zleciła wykonanie rutynowych badań laboratoryjnych. Ponadto Kandydatka przeanalizowała czynniki ryzyka wystąpienia niedoboru witaminy D.

Ponadto zostały wykonane oznaczenia w Laboratorium współpracującym z POZ oraz oznaczenia stężeń całkowitej witaminy D3 (total 25OH), 1,25-dihydroksywitaminy D3, białka wiążącego witaminę D3 oraz receptora witaminy D w pracowni naukowej Zakładu Medycyny Klinicznej UMB z wykorzystaniem czytnika mikroplątek MultiScan GO wraz z dedykowanym oprogramowaniem (Thermo Fisher Scientific, Finlandia).

Wszystkie obliczenia przeprowadzono przy użyciu pakietu statystycznego Statistica, wersja 10. Uzyskane wyniki zostały przedstawione w postaci średniej z odchyleniem standardowym i/lub mediana z wartościami skrajnymi w zależności od rodzaju rozkładu

Katarzyna  
Krzaczowska

zmiennych. Dla cech jakościowych podano ich rozkład ilościowo-procentowy. Zgodność z rozkładem normalnym sprawdzano przy użyciu testu Shapiro-Wilka.

Badanie powiązań pomiędzy rozważanymi zmiennymi wykonano przy użyciu testu korelacji Spearmana ze względu na włączenie do macierzy korelacji zmiennych jakościowych oraz brak spełnienia kryterium rozkładu normalnego przez liczne zmienne.

W charakterystyce porównawczej grup zastosowano test t prób niezależnych dla zmiennych o rozkładzie normalnym oraz test U Manna-Whitneya dla zmiennych o rozkładzie innym niż normalny. Współzależność między cechami jakościowymi oceniono testem X<sup>2</sup>. Analizę wieloczynnikową przeprowadzono przy pomocy modelu regresji wielorakiej. Analiza statystyczna została przeprowadzona poprawnie.

Doktorantka przedstawiła *Wyniki* pracy na 46 stronach, zawierając je w 27 tabelach i na 46 rycinach. Na podstawie danych dostępnych w dokumentacji medycznej Autorka stwierdziła, że u 24,9% pacjentów z nadciśnieniem tętniczym współwystępowała cukrzyca, a u 8,1% stan przedcukrzycowy. Pacjenci z grupy badanej przyjmowali głównie leki z trzech grup leków hipotensyjnych. W populacji badanej stwierdzono jedynie dwie osoby (1,07%), u których stosowano leczenie nefarmakologiczne. Warto podkreślić fakt, że aż 127 chorych (68,3 %) stosowało leki moczopędne; inhibitory konwertazy angiotensyny- 119 pacjentów (63,9%), natomiast u 108 pacjentów (58,1%) stosowano w leczeniu hipotensyjnym leki z grupy beta-blokerów. Najrzadziej stosowano leki z grupy antagonistów receptora angiotensynowego- tylko u 38 chorych (31%). Kandydatka opisała przewlekły zespół wieńcowy u 8,6 % osób z badanej grupy pacjentów. Ponadto u 29,2% pacjentów stwierdziła niewydolność serca, a u 62,2% chorych zaburzenia lipidowe. 15,7 % osób paliło wyroby tytoniowe.

Autorka stwierdziła u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym istotnie statystycznie niższe stężenie witaminy D w surowicy w porównaniu z grupą referencyjną. Przy uwzględnieniu w analizie statystycznej podziału na płeć Kandydatka zaobserwowała istotnie niższe stężenie witaminy D wśród kobiet zarówno w grupie badanej, jak i w grupie referencyjnej. Ponadto Kandydatka wykazała istotną ujemną korelację pomiędzy stężeniem witaminy D w surowicy pacjentów z grupy badanej a częstością pracy serca, wagą ciała, wskaźnikiem BMI, stężeniem glukozy i triglicerydów. Co ciekawe, Autorka nie stwierdziła istotnych korelacji pomiędzy stężeniem witaminy D w surowicy, a stężeniem cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL i cholesterolu nie-HDL w grupie badanej.

Katarzyna Ksiazkowska



Doktorantka wykazała istotnie niższe stężenie witaminy D w surowicy pacjentów przyjmujących leki z dwóch grup leków hipotensyjnych: beta-blokerów oraz antagonistów receptora mineralokortykoidowego oraz wśród pacjentów leczonych statynami i ASA natomiast nie stwierdziła różnic pomiędzy stężeniem witaminy D w surowicy, a stosowaniem pozostałych grup leków, w tym antagonistów receptora angiotensyny, inhibitorów konwertazy angiotensyny, diuretyków czy blokerów kanału wapniowego. Warte podkreślenia jest fakt wykazania przez Doktorantkę znacząco niższych wartości stężeń witaminy D w podgrupie pacjentów ze współwystępującą niewydolnością serca. Niezwykle ciekawe są wyniki otrzymane przez Doktorantkę dotyczące VDBP. Kandydatka wykazała istotnie statystycznie niższe stężenia VDBP wśród mężczyzn z grupy badanej a także u chorych ze współwystępującą cukrzycą oraz niewydolnością serca.

Doktorantka w przeprowadzonym badaniu nie wykazała istotnych różnic między średnimi stężeniami białka wiążącego witaminę D (VDBP) w grupie 185 pacjentów z nadciśnieniem a średnim stężeniem w grupie referencyjnej. Brak stwierdzonych różnic może wynikać z interwencji terapeutycznych w grupie badanej i utrzymaniem ciśnienia tętniczego w stabilnych wartościach.

Natomiast Doktorantka stwierdziła ujemną korelację pomiędzy stężeniem VDBP a skurczowym ciśnieniem tętniczym, stężeniem glukozy i wiekiem pacjentów a dodatnią zależność stężenia 25(OH)D<sub>3</sub> i VDBP wobec stężenia cholesterolu HDL w grupie badanej. Interesujący jest wpływ stosowanych leków na stężenia VDBP. Doktorantka wykazała istotnie statystycznie niższe stężenie VDBP w surowicy pacjentów przyjmujących leki z grupy antagonistów receptora mineralokortykoidowego oraz diuretyków. Za cenne uważam przeprowadzenie przez Kandydatkę analizy zależności stężeń VDR i wykazanie istotnie niższej mediany stężenia VDR w surowicy w grupie chorych z niewydolnością krążenia i częstością pracy serca. Ponadto Doktorantka wykazała istotnie niższe stężenie receptora witaminy D w surowicy pacjentów przyjmujących leki z grupy antagonistów receptora mineralokortykoidowego i ASA. Nie stwierdziła różnic w stężeniach VDR w surowicy pacjentów przyjmujących leki hipotensyjne z grupy BB, ACEI, ARB, CCB, diuretyków oraz statyn.

Katarzyna Krausowska

W rozdziale poświęconym *Dyskusji* Kandydatka w sposób staranny i dokładny odniosła się do uzyskanych wyników, które analizowała w trakcie obserwacji. Opisała charakterystykę grupy badanej na tle danych literaturowych, częstotliwość występowania nadciśnienia tętniczego w Polsce oraz istotny problem niedoszacowania nadciśnienia tętniczego w populacji polskiej. Kandydatka opisała wytyczne PTNT z prewencją pierwotną i wtórną chorób sercowo-naczyniowych i koniecznością przeprowadzania badań przesiewowych łącznie z pomiarem ciśnienia tętniczego w grupie osób dorosłych. Ponadto Kandydatka na tle danych literaturowych opisała rolę witaminy D w zespołach kardiometabolicznych jak i w regulacji układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAAS), którego nieprawidłowe funkcjonowanie leży u podstaw patogenezy większości chorób układu sercowo-naczyniowego. Doktorantka opisała rolę białka wiążącego witaminę D (VDBP) podkreślając innowacyjność pracy w związku z analizą VDBP a nadciśnieniem tętniczym. Kandydatka wskazała na brak we wcześniejszych badaniach stwierdzenia istotnej ujemnej zależności pomiędzy wartościami skurczowego ciśnienia krwi a poziomem VDBP w odniesieniu do wartości w grupie referencyjnej. Za cenne uważam również omówienie przez Doktorantkę roli oznaczanych parametrów- stężeń witaminy D, VDBP w niewydolności krążenia. Na podkreślenie zasługuje fakt omówienia przez Doktorantkę na podstawie uzyskanych wyników zasad suplementacji witaminy D. Rozważanie przez Kandydatkę celowości wprowadzenia dodatkowych zaleceń dotyczących obligatoryjnego stosowania preparatów lekowych witaminy D u wszystkich pacjentów ze zdiagnozowanym nadciśnieniem tętniczym w przypadku współistniejącej niewydolności serca lub stosowania leków z grupy BB, MRA, bądź diuretyków uważam za zasadne i godne podkreślenia jako cenny wniosek wynikający z przeprowadzonej analizy.

Doktorantka w sposób dojrzały przeprowadziła omówienie cytowanego piśmiennictwa, budzi może trochę niedosyt większego odniesienia do najnowszych publikacji, szczególnie z okresu ostatnich pięciu lat. Niezwykle cenny jest fakt użyteczności oznaczeń stężeń witaminy D i podkreślenie roli oznaczeń VDBP, co udało się dowieść Doktorantce na przykładzie badania jednośrodkowego.

Doktorantka zwracając uwagę na ograniczenia badania w rozdziale 2.6 dotyczącym krytycznej analizy materiału i metodyki wynikające z ograniczonej liczebności grupy badanej dotyczących danych z jednego ośrodka oraz wskazując na konieczność dalszych prospektywnych badań wykazuje dojrzałość młodego naukowca umiejącego w sposób krytyczny podejść do własnych procesów badawczych i zasługuje na uznanie.

Katarzyna Krzanowska



Pracę kończy 8 starannie przedstawionych wniosków, podsumowujących pracę i odpowiadających na postawione cele pracy. Niezwykle cenne jest udowodnienie przez Kandydatkę, że stężenie białka wiążącego witaminę D w surowicy pacjentów z nadciśnieniem tętniczym ujemnie koreluje z wartościami skurczowego ciśnienia krwi w odniesieniu do wartości w grupie referencyjnej. W dostępnym piśmiennictwie nie opisywano dotychczas podobnej zależności.

Wart podkreślenia jest wniosek 7 uwzględniający wpływ leków na stężenie witaminy D. Autorka stwierdziła, że stężenie witaminy D jest niższe w surowicy pacjentów przyjmujących leki z grupy beta-blokerów. Niższe stężenia witaminy D, VDBP oraz VDR Kandydatka opisała wśród pacjentów przyjmujących leki z grupy antagonistów receptora mineralokortykoidowego.

Praca doktorska lek. med. Małgorzaty Agnieszki Rudzińskiej ma bardzo staranną szatę edycyjną, jest napisana czytelnym językiem. Opisy tabel i rycin ułatwiają orientację w analizowanych wynikach. Ułatwieniem jest zamieszczenie wykazu skrótów, które zostały zamieszczone na stronach 6-8. Zestawienie piśmiennictwa i cytacje są poprawne.

Rozprawa doktorska lek.med. Małgorzaty Agnieszki Rudzińskiej jest przykładem kompleksowego, dobrze zaplanowanego badania, o ważnych implikacjach praktycznych. Wnioski wynikające z pracy potwierdzają, że rola witaminy D, białka wiążącego witaminę D oraz VDR w grupie chorych na nadciśnienie pierwotne jest ważna w planowaniu modyfikacji terapii wpływając na poprawię rokowania w aspekcie powikłań naczyniowo-sercowych a w konsekwencji na zmniejszenie śmiertelności w tej grupie pacjentów.

Z roli recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na konieczność przeprowadzania dalszych prospektywnych analiz z uwzględnieniem porównania powtarzalnych badań. Warto byłoby także uwzględnić porównanie badań biochemicznych oraz pomiarów ciśnienia, w tym ABPM jako „złotego standardu” w rozpoznawaniu i monitorowaniu nadciśnienia tętniczego w ustalonych odstępach czasu od momentu włączenia terapii witaminą D oraz wpływ i rodzaj zastosowanych interwencji na przebieg rokowania. Poszerzenie grupy badawczej zwiększyłoby także wartość statystyczną pracy. Byłoby to niezwykle cenne do przygotowania publikacji. Przedstawione uwagi nie umniejszają jednak pracy badawczej i wnioskom płynącym z uzyskanych wyników.

Katarzyna Krawowska

## Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska lek. med. Małgorzaty Agnieszki Rudzińskiej jest przykładem kompleksowego, dobrze zaplanowanego badania klinicznego o ważnych implikacjach praktycznych. Wnioski wynikające z pracy powinny utwierdzić w przekonaniu wszystkich lekarzy odpowiedzialnych za leczenie chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym o konieczności wdrożenia dodatkowych oznaczeń, w tym białka wiążącego witaminę D oraz VDR, co może istotnie wpływać na podjęcie działań terapeutycznych hamujących progresję choroby a także powikłań sercowo-naczyniowych w tej populacji pacjentów.

Mając powyższe na uwadze, wnoszę do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. med. Małgorzaty Agnieszki Rudzińskiej do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim, gdyż przedstawiona rozprawa spełnia **warunki określone w art. 179 Ustawy 1 z dnia 03 lipca 2018r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (dz.U. z 2018roku poz.1669 z późn. zm.) w związku z art.13 ust. 1. Ustawy z dnia 15 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tj. Dz.U. z 2017 r., poz. 1789).**

**Ze względu na jakość i kompleksowość przeprowadzonych badań, niezmierną staranność samej pracy jak i uzyskane wyniki mogące posłużyć każdemu lekarzowi mającemu w opiece chorych dializowanych w codziennej praktyce – wniosuję o wyróżnienie pracy.**

dr hab. n.med. Katarzyna Krzanowska, prof. UJ

Katedra i Klinika Nefrologii i Transplantologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie

*Katarzyna Krzanowska*

Dr hab.n.med. Katarzyna Krzanowska  
Prof. UJ  
Specjalista chorób wewnętrznych  
NEFROLOG  
TRANSEPLANTOLOG  
KLINICZNY  
8179888