

Recenzja rozprawy doktorskiej

lek. med. **Reginy Pawlak-Chomickiej**

zatytułowanej:

***Ocena fluorescencji NADH mierzonej metodą Flow Mediated Skin
Fluorescence (FMSF) u osób z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym przed i po
wdrożeniu terapii hipotensyjnej***

Nadciśnienie tętnicze według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) jest najczęstszą chorobą układu sercowo naczyniowego, której globalna częstość w populacji między 30 a 79 rokiem życia szacowana jest na około 34% u mężczyzn i 32% u kobiet. Co więcej globalnie szacowana liczba osób z nadciśnieniem tętniczym uległa podwojeniu między rokiem 1990 a 2019. Nadciśnienie tętnicze należy do wiodących przyczyn zgonów i chorobowości sercowo naczyniowej. Występuje ciągła zależność między wysokością ciśnienia tętniczego a ryzykiem udaru mózgu, zawału serca, niewydolności serca i niewydolności nerek. Żaden z funkcjonujących systemów opieki zdrowotnej nie pozwala ani na osiągnięcie w pełni satysfakcjonujących wskaźników wykrywalności nadciśnienia, ani tym bardziej zadowalających wskaźników kontroli ciśnienia tętniczego czy prawidłowego leczenia nadciśnienia. W Polsce wg wyników badania WOBASZ w żadnym z województw odsetek osób prawidłowo leczonych z powodu nadciśnienia tętniczego nie przekroczył 30%. Pomimo niewątpliwego postępu w diagnostyce i leczeniu, zwłaszcza farmakoterapii nadciśnienia tętniczego niewątpliwie do czynników odpowiedzialnych za ciągle niezadowalające wyniki leczenia należą nie w pełni poznana etiologia i patomechanizmy rozwoju tej choroby oraz jej powikłań. Dlatego uważam, że wszelkie badania podejmujące próbę pogłębienia wiedzy na temat patofizjologii nadciśnienia tętniczego, jak w przypadku prac składających się na przedłożoną mi do recenzji rozprawę doktorską lek. med. Reginy Pawlak Chomickiej są bardzo ważne. Opublikowane prace cyklu stanowią niewątpliwie oryginalny i pionierski wkład w wiedzę na temat znaczenia zaburzeń mikrokrążenia i



aktywności metabolicznej mitochondriów ocenianej w oparciu analizę fluorescencji NADH tzn. zredukowanej formy dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego z zastosowaniem metody FMSF (flow mediated skin fluorescence) u chorych z nadciśnieniem tętniczym. Ta nowoczesna metoda bazująca na zjawisku fluorescencji NADH w komórkach skóry po wzbudzeniu ultrafioletem daje niepowtarzalną szansę relatywnie taniej, bezpiecznej dla pacjenta i łatwo-powtarzalnej oceny zarówno mikrokrążenia jak i metabolizmu tkankowego, w stosunku do bardziej zaawansowanych metod obrazowych i biochemicznych i wykorzystywana jest zaledwie w kilku wiodących ośrodkach uniwersyteckich w tym na Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu

Warto podkreślić, że przeprowadzone badania realizowane były w oparciu o grant badawczy ANG/ZK/1/2017 z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu dofinansowanego ze środków Unii Europejskiej (Europejski Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój.

Rozprawa ma typowy układ dla prac doktorskich realizowanych w oparciu o cykl publikacyjny. W tym przypadku na rozprawę składa się cykl 3 prac oryginalnych opublikowanych w czasopiśmie recenzowanych o łącznej wartości wskaźnika oddziaływania IF - 9,9 i punktacji MNiSW - 380. We wszystkich pracach Pani doktor Regina Pawlak-Chomicka jest pierwszym autorem, a załączone oświadczenia współautorów wskazują na jej wiodącą rolę w ich powstaniu. Rozprawa opatrzona jest „Wykazem stosowanych skrótów” i „Spisem treści” znacznie ułatwiający czytanie. Pozostałe części rozprawy to: *Wykaz publikacji tworzących cykl, Przedmiot badań i komentarz, Wstęp, Założenia rozprawy, Omówienie prac wchodzących w skład cyklu, Streszczenie oraz Wykaz piśmiennictwa* – obejmujący 64 pozycje.

W obszernym -5 stronicowym **Wstępie** Autorka przedstawia oparty o analizę bieżącej literatury zarys epidemiologii i patofizjologii nadciśnienia tętniczego pierwotnego oraz jego powikłań ze szczególnym uwzględnieniem roli naczyń mikrokrążenia i dysfunkcji mitochondriów, które były przedmiotem prowadzonych badań. W sposób wyczerpujący, ale zarazem bardzo przystępny opisuje również założenia metody Flow Mediated Skin Fluorescence (FMSF), będącej podstawą oceny mikrokrążenia i metabolizmu komórkowego w prowadzonych badaniach, przedstawiając jej przewagę nad innymi metodami stosowanymi w ocenie mikrokrążenia. Dzięki bardzo dobrze przemyślanemu i zredagowanemu wstępowi Autorka płynnie przechodzi do przedstawienia celów i **Założeń**

rozprawy, którymi są w aspekcie ogólnym: zgłębienie zagadnień patofizjologii nadciśnienia tętniczego pierwotnego, poszukiwanie metod wczesnego wykrycia powikłań nadciśnienia oraz zbadanie wpływu stosowania podstawowych leków hipotensyjnych przy użyciu metody FMSF. Szczegółowe cele przeprowadzonych badań obejmowały natomiast:

- ocenę udziału odpowiedzi komórkowej i mitochondrialnej na niedotlenienie u osób z nowo rozpoznanym, nieleczonym nadciśnieniem tętniczym pierwotnym.

- zbadanie implikacji klinicznych atypowego przebiegu sygnału fluorescencji NADH, mierzonego za pomocą metody FMSF, u pacjentów z nowo rozpoznanym nieleczonym nadciśnieniem tętniczym pierwotnym.

- ocenę wpływu amlodypiny, perindoprilu, nebiwololu i metoprololu na sygnał fluorescencji NADH mierzony za pomocą metody FMSF u pacjentów z nowo rozpoznanym nieleczonym nadciśnieniem tętniczym pierwotnym.

Każdemu z tak zdefiniowanych celów odpowiadała jedna publikacja w przedstawionym do recenzji cyklu.

Do tej części rozprawy mam jedynie jedną uwagę krytyczną i jeden uzupełniający komentarz.

Uwaga krytyczna dotyczy definicji nadciśnienia. Autorka stwierdza:

... nadciśnienie, jednostkę chorobową definiuje się od wartości równej lub wyższej 140/90 mmHg w pomiarach gabinetowych lub na podstawie całodobowego pomiaru ciśnienia tętniczego, gdzie choćby jedna wartość osiąga co najmniej wielkość wymienioną spośród średnich: dla dnia 135/85 mmHg, dla nocy 120/70 mmHg, dla całej doby 130/80 mmHg (2).

Zacytowaną pozycją piśmiennictwa (2) jest dokument wytycznych ESH z 2018 r, który poza definicją mówiącą:

... ABPM values are, on average, lower than office BP values, and the diagnostic threshold for hypertension is $\geq 130/80$ mmHg over 24 h, $\geq 135/85$ mmHg for the daytime average, and $\geq 120/70$ for the nighttime average (all equivalent to office BP $\geq 140/90$ mmHg

stwierdza również:

...Compared with office BP, HBPM values are usually lower, and the diagnostic threshold for hypertension is $\geq 135/85$ mmHg (equivalent to office BP $\geq 140/90$ mmHg).

Dlaczego w przedstawionej rozprawie w definicji nadciśnienia (kryteriach rozpoznania) pominięto pomiary domowe HBPM?

MR

Komentarzem chciałbym opatrzyć frazę **Wstępu** mówiącą, że:

Ważnym komponentem teorii mozaikowej jest aldosteron. Hormon ten jest wytwarzany przez warstwę kłębkową nadnerczy w odpowiedzi na angiotensynę II i zwiększone pozakomórkowe stężenie potasu. Receptory dla aldosteronu znajdują się w nerkach, gdzie hormon ten zwiększa wchłanianie zwrotne sodu, ale także w wielu innych narządach jak serce, naczynia krwionośne, komórki odpornościowe i mózg, gdzie także odgrywa istotną rolę -na przykład myszy z delecją receptora mineralokortykoidowego ...

Zdanie, poprzez swój bardzo zwięzły charakter sugeruje, że receptor mineralokortykoidowy jest wyłącznie receptorem dla aldosteronu. Tymczasem powinowactwo aldosteronu do tego receptora jest rzeczywiście największe, ale wiąże się on również np. z kortyzolem, przy czym pula receptorów mineralokortykoidowych związana z kortyzolem jest większa niż z aldosteronem. Funkcje receptora mineralokortykoidowego w różnych procesach i narządach są w istocie różnorodne a sam receptor występuje również w komórkach organizmów nie wytwarzających aldosteronu.

W **Omówieniu prac wchodzących w skład cyklu** Autorka przedstawia w sposób przystępny wyniki uzyskane i opublikowane w kolejnych pracach cyklu dołączając do nich komentarz i skróconą w stosunku do oryginalnej publikacji dyskusję.

Trudno z punktu widzenia recenzenta rozprawy doktorskiej odnosić się mniej lub bardziej krytycznie do faktów naukowych za jakie uważam wyniki opublikowane w czasopiśmie recenzowanym.

Pozostaje mi raczej pogratulować bardzo ciekawego wyniku pierwszej pracy zatytułowanej: *"Investigating the Ischaemic Phase of Skin NADH Fluorescence Dynamics in Recently Diagnosed Primary Hypertension: A Time Series Analysis"*, która zrealizowała pierwszy z założonych celów badawczych wykazując, że pacjenci z pierwotnym, nieleczonym nadciśnieniem tętniczym mają szybszy wzrost fluorescencji NADH skóry w porównaniu z osobami zdrowymi we wczesnym stadium niedokrwienia tkanki. Wynik ten sugeruje, że wczesna faza niedokrwienia w metodzie FMSF jest prawdopodobnie wystarczająco czuła, aby wykryć pierwsze objawy dysfunkcji mitochondriów w nadciśnieniu tętniczym.

Za najciekawszą pracę przedstawionego do recenzji cyklu uważam jednak drugą z omawianych zatytułowaną: *"Arterial blood pressure features of hypertensive patients with typical and atypical 460 nm skin fluorescence response to transient ischaemia"* a to ze względu na odkrycie zróżnicowania zapisu FMSF w odpowiedzi na ischemię między różnymi chorymi z

nadciśnieniem tętniczym. Można by mówić nawet o pewnego rodzaju opisanych fenotypach odpowiedzi FMSF na ischemię, zwłaszcza, że autorzy stwierdzili ich powtarzalność u osób badanych i powiązanie tzw. „nietypowych sygnałów fluorescencji NADH” z podwyższoną częstością akcji serca, obwodowym i centralnym ciśnieniem rozkurczowym, całą z centralnego ciśnienia skurczowego i tzw. produktem podwójnym. Dalsze badania nad tym zagadnieniem mają duży potencjał poznawczy.

Trzecia praca cyklu: „*The Effect of Antihypertensive Drugs on NADH in Newly Diagnosed Primary Hypertension*” podejmuje ważny problem wpływu leczenia różnymi lekami przeciwnadciśnieniowymi na FMSF. Grupę badaną stanowiło 76 pacjentów z pierwotnym łagodnym do umiarkowanego nadciśnieniem tętniczym, których zrandomizowano do leczenia odpowiednio perindoprilem w dawce 5 mg, lub amlodypiną w dawce 5 mg lub nebiwololem w dawce 5 mg lub wreszcie metoprololem w dawce 50 mg. Leczenie prowadzono przez 6 tygodni. Ocenę FMSF przeprowadzono przed włączeniem leczenia i po 6 tygodniach leczenia. Wszystkie zastosowane leki wykazywały podobny efekt hipotensyjny. Statystycznie istotną zmianę poziomu fluorescencji NADH uzyskano jedynie u osób stosujących metoprolol, ponieważ w grupie tej wykazano zarówno wzrost sygnału spoczynkowego oraz fluorescencji maksymalnej i minimalnej na przebiegu krzywej oraz różnicy między fluorescencją bazalną a minimalną a fluorescencja z nagromadzenia NADH jest zjawiskiem niekorzystnym wskazującym na niewydolność procesu oksygenacji podczas oddychania komórkowego autorzy sugerują negatywny, a przynajmniej neutralny, wpływ metoprololu na mikrokrążenie. W dyskusji wskazują również na możliwe patomechanizmy tego efektu tzn. możliwy wpływ metoprololu na transport tlenu przez hemoglobinę lub bezpośredni wpływ hamujący na metabolizm tlenowy w mitochondriach. Podobnie jak autorzy zachowałbym w interpretacji wyniku uzyskanego dla FMSF w grupie leczonej metoprololem dużą ostrożność z kilku względów. Co prawda, betaadrenolityki zwłaszcza kardioselektywne, bez wewnętrznej aktywności sympatykomimetycznej, jak właśnie metoprolol, znane są ze zmniejszenia konsumpcji tlenu i zapotrzebowania tlenowego w mięśniu sercowym, co np. w chorobie niedokrwiennej serca jest interpretowane na ich korzyść. Czy rzeczywiście obserwowany w przeprowadzonym badaniu efekt kumulacji NADH przy leczeniu metoprololem jest negatywny/niekorzystny dla chorego w obserwacji długoterminowej nie wiemy ze względu na krótki okres obserwacji w badaniu. Mała liczebność grupy badanej, brak skutecznej metody weryfikacji poziomu współpracy w zażywaniu leku, otwarty charakter badania „open label” to

inne powody do ostrożności w interpretacji wyniku. Wszystko to jednak nie zmienia podstawowego faktu, że wynik taki został uzyskany i wymaga potwierdzenia w zaplanowanym randomizowanym kontrolowanym placebo badaniu (RCT) w większej grupie chorych.

Podsumowując:

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska lek. med. Reginy Pawlak-Chomickiej zatytułowana: „*Ocena fluorescencji NADH mierzonej metodą Flow Mediated Skin Fluorescence (FMSF) u osób z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym przed i po wdrożeniu terapii hipotensyjnej*” w pełni odpowiada warunkom określonym w artykule 187. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 o prawie o szkolnictwie wyższym i nauce (Dziennik Ustaw 2018 poz. 1668).

Zaprezentowana nowoczesna metodologia badania może służyć za przykład dla innych tego rodzaju projektów i zastosowana została z sukcesem, czego wyrazem jest osiągnięcie wszystkich założonych celów badawczych.

Uzyskane wyniki są oryginalne, mają istotną wartość naukową i zostały opublikowane w wysoko impaktowanych periodykach medycznych. Co więcej, uzyskane wyniki wskazują, że obrany kierunek badań może być z powodzeniem kontynuowany. Dlatego zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie lek. med. Reginy Pawlak- Chomickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wyróżnienie rozprawy.

Prof. dr hab. med. Marek Rajzer
I Klinika Kardiologii, Elektrokardiologii
Interwencyjnej oraz Nadciśnienia Tętniczego
Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

