Prof. dr hab. Juliusz Przysławski

Katedra i Zakład Bromatologii

Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Poznań, dnia 10 grudnia 2021 roku.

Recenzja pracy doktorskiej pt.:

„Całkowity status antyoksydacyjny i stężenie wybranych pierwiastków u osób z chorobą Alzheimera", wykonanej przez lek. med. Katarzynę Natalię Klimiuk w Zakładzie Bromatologii, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem naukowym dr hab. n. farm. Katarzyny Sochy (Promotor pomocniczy – dr hab. n. o zdr. Sylwia Naliwajko)

Ocena wyboru tematu

Człowiek w swoim życiu doświadcza licznych okresów, określanych mianem choroby, która w języku potocznym oznacza niedomaganie, przypadłość prowadzącą do dyskomfortu psychicznego i fizycznego. Konsekwencją takiego stanu, są działania zmierzające do poprawy stanu zdrowia – czyli „pozbycia się" choroby, a historia medycyny, w lapidarnym ujęciu - to historia leczenia chorób. Leczenie, to postępowanie lekarskie, chirurgiczne, farmakologiczne, którego celem jest przywrócenie pacjentowi zdrowia. Sukces terapeutyczny określamy mianem wyleczenia. Remisja choroby daje nadzieję – może nie na całkowite wyleczenie, ale przynajmniej poprawne funkcjonowanie w realiach codziennego życia. Pojawia się jednak pytanie, czy tak jest zawsze ?. Niestety, nie jest to obraz do końca prawdziwy, istnieje bowiem cały szereg chorób – w tym ośrodkowego układu nerwowego, których początek jest mało charakterystyczny, a objawy są dostrzegalne, gdy znaczna część komórek nerwowych uległa trwałemu uszkodzeniu. Wśród chorób neurodegeneracyjnych szczególne miejsce zajmuje choroba Alzheimera, mająca status choroby nieuleczalnej w której celem terapeutycznym jest opóźnienie jej przebiegu w czasie. Choroba Alzheimera będąca przykładem „otępienia starczego", jest uznawana za najczęstszą przyczynę demencji, charakteryzującej się postępującym deficytem funkcji poznawczych. Biorąc pod uwagę fakt, że w ujęciu globalnym jest obserwowany proces starzenia się społeczeństwa, problem odpowiedniej diagnostyki i leczenia chorób wieku starczego nabierają priorytetowego znaczenia.

W świetle powyższych faktów podejmowanie wszelkich badań zmierzających do pozyskiwania nowych informacji przydatnych w leczeniu tej choroby oraz opóźnienia jej rozwoju i przebiegu, wydają się w pełni uzasadnione.

Tę drogę wybrała również Doktorantka, która pod kierunkiem naukowym dr hab. Katarzyny Sochy pojęła się ambitnego zadania dotyczącego oceny zależności pomiędzy surowiczymi stężeniami wybranych pierwiastków, całkowitym statusem antyoksydacyjnym, wybranymi

czynnikami żywieniowymi i środowiskowymi, a stanem klinicznym grupy pacjentów z chorobą Alzheimera. Wybór tematu pracy doktorskiej nie został dokonany przypadkowo, lecz poprzedziła go dogłębna analiza piśmiennictwa z tego zakresu, wskazująca na konieczność dalszych badań z tego zakresu.

Ocena układu redakcyjnego pracy

Rozprawa doktorska lek. med. Katarzyny Natalii Klimiuk jest opracowaniem obejmującym 187 stron maszynopisu. Strona redakcyjna nie budzi zastrzeżeń i spełnia ogólne wymogi, przyjęte w tego typu opracowaniach. Została zachowana właściwa proporcja pomiędzy rozdziałami pracy. Uwagę zwraca komunikatywny, a czasami wręcz narracyjny charakter języka, co jest niewątpliwym plusem biorąc pod uwagę omawianą problematykę. W pracy występują nieliczne błędy logiczne i stylistyczne czy też zaczerpnięte z mowy potocznej, jednakże nie mają one wpływu na wartość formalną dysertacji. Problematyka badawcza została opisana w sposób jasny i przejrzysty. Układ redakcyjny pracy obejmuje 10 rozdziałów – zróżnicowanych tematycznie i objętościowo. Są to: wstęp – który zawiera istotne informacje dotyczące choroby Alzheimera, roli stresu oksydacyjnego i składników odżywczych w promocji/profilaktyce tej choroby, ze szczególnym zwróceniem uwagi na wybrane makro- i mikropierwiastki oraz metale toksyczne, założenia pracy z wyszczególnieniem celów szczegółowych, materiał i metodykę badań z opisem badanej grupy pacjentów, materiału do badań, oceny sposobu żywienia i wybranych zachowań żywieniowych, oznaczania surowiczych stężeń wybranych pierwiastków, całkowitego statusu antyoksydacyjnego, wyników badań, ich omówienia i dyskusji, wniosków, streszczenia w języku polskim i angielskim, piśmiennictwa, wykazu tabel i rycin oraz załączników. Całość została poprzedzona wykazem skrótów. Praca zawiera łącznie 32 tabele – przy czym tabele 1 do 5 zostały zamieszczone w części teoretycznej prazy oraz metodyce badań, kolejne – 6 do 32 w rozdziale „Wyniki badań". Rozdział ten zawiera również 35 rycin, które wzbogacają nie tylko stronę graficzną dysertacji, lecz także są doskonałym uzupełnieniem uzyskanych wyników badań. Zarówno tabele jak i ryciny zostały zaprojektowane w sposób prawidłowy, a ich estetyka jest na najwyższym poziomie, chociaż pewne zdziwienie budzi odmienna „forma graficzna" tabel 26 do 32. Skupiając się na układzie redakcyjnym pracy – z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić uwagę na kilka kwestii, które nie mają charakteru merytorycznego, lecz redakcyjny, i nie wpływają na ostateczną ocenę pracy. Z uwagi na pojawiające się zamiennie pojęcia fosforylacja i fosforyzacja (str. 11, 12) powinny zostać one wyjaśnione, czy są tożsame. Uszczegółowienia wymagają również kwestie dotyczące: konwersji ALA do EPA i DHA (str. 31, 32), która jest na poziomie 2-3 % (główne źródło to tłuszcze i oleje rybne), niedobór witaminy D raczej zwiększa ryzyko AD, a nie jest jednym z czynników warunkujących wystąpienie AD (str. 34), w zdaniu „Łatwość przenikania przez błony biologiczne.....", chyba chodzi o wydalanie z organizmu, a nie wydzielanie (str. 43), podobnie w zdaniu „Podobnie zarejestrowano.... – byłoby lepiej „zaobserwowano" i dalej w tym samym zdaniu – „niższe niż zapotrzebowanie wystarczającego spożycia" powinno być „niższe niż norma wystarczającego spożycia EAR" (str. 59), na stronach 35, 50, a także w tabelach 9 i 10 „przydałby się" dolny indeks przy literowych skrótach witamin. Warto pamiętać, że zdań nie rozpoczynamy od akronimów (str. 41 np. DCT1...). Z uwagi na dużą swobodę Doktorantki w posługiwaniu się poprawną formą językową, wszelkie wyrazy zaczerpnięte z mowy potocznej są mocniej wyakcentowane (np. natki i warzywa strączkowe,

energetyczność diet – powinno być „wartość energetyczna diet", a „odpipetowywanie" zastąpić – „przenoszono pipetą" (str. 38, 56, 58, tytuły tabel 7 i 8), czy też „nadmierne odżywienie kaloryczne" (str. 106). Dobrze by było ujednolicić pod względem formy tabele, które są dobrze zredagowane, są czytelne, jednakże brakuje im ujednolicenia w sensie graficznym. Słownik terminów można by było uzupełnić wykazem skrótów pojawiających się w dysertacji – np. PMR, MCI. Należy podkreślić, że będący przedmiotem dysertacji, szeroki zakres badań, w sposób oczywisty komplikuje opracowanie obszernego materiału badawczego. W konkluzji należy podkreślić z całą stanowczością, że Doktorantka bardzo dobrze poradziła sobie z opracowaniem poszczególnych części pracy. Zarówno pod względem formy, jak i treści dysertacja prezentuje sobą opracowanie tworzące zwartą logiczną całość.

Bibliografia i znajomość omawianej przez Doktorantkę problematyki

Przedstawiona do oceny dysertacja zawiera wyjątkowo obszerną, obejmującą 345 pozycji piśmiennictwa bibliografię, która została starannie dobrana i wyselekcjonowana ze zbiorów światowego piśmiennictwa. W większości (około 75 % ogółu cytowanych prac), to pozycje zagraniczne, uzupełnione wybranymi pracami polskojęzycznymi. Tak obszerna liczba publikacji dotyczących problematyki, która stała się tematem dysertacji, wskazuje na nieustanne poszukiwanie przyczyn, metod leczenia i zapobiegania chorobie Alzheimera. Warto podkreślić, że ponad 50 % ogółu cytowanych prac pochodzi z ostatniej dekady, co świadczy o dbałości Doktorantki o zapewnienie sobie dostępu do danych aktualnych, a obecność tylko dwóch odnośników do stron internetowych – dbałości o wyniki oparte na wiarygodnych i sprawdzonych danych. Jest to także niewątpliwy sygnał, potwierdzający aktualność i celowość podjętej problematyki badawczej. Oczywiście, opracowanie tak obszernej bazy bibliograficznej jest przedsięwzięciem bardzo trudnym, stąd dostrzeżone pewne pomyłki (np. pozycje 50, 86, 94 „wyłamują się „ z układu alfabetycznego) znajdują swoje wytłumaczenie. Niewątpliwie, sprawdzianem praktycznym posiadanej przez Doktorantkę wiedzy, jest dobrze zredagowany wstęp, w którym Doktorantka opisała jednostkę chorobową, kryteria jej rozpoznania, leczenia, różnicowania, profilaktyki. Nie będzie przesadą stwierdzenie, że jest to mini kompendium na temat choroby Alzheimera oparte na najnowszej wiedzy z tego zakresu. Z racji podjętej tematyki badawczej szczególny nacisk został położony na zaburzenia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej, jako jednego z czynników ryzyka rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, rolę wybranych składników odżywczych w łagodzeniu zaburzeń poznawczych w tej chorobie, zwracając szczególną uwagę na wybrane makro- i mikropierwiastki oraz metale ciężkie. Zawartość treściowa poszczególnych podrozdziałów nie jest przypadkowa, i w sposób celowy ukierunkowuje czytelnika w istotę problemu badawczego. Na kanwie tych informacji, przekonywująco brzmi uzasadnienie celu pracy, przedstawione w rozdziale drugim dysertacji. Jak wiadomo, stosowane w chorobie Alzheimera leki, których celem jest przede wszystkim opóźnienie w rozwoju nieodwracalnych zmian w mózgu, wykazują szereg działań ubocznych, stąd poszukiwanie innych 'zastępczych form terapii", które – cytując za Doktorantką, „mogłyby wpłynąć na poprawę jakości życia pacjentów". Oceniając pod względem merytorycznym część teoretyczną, należy podkreślić, że Doktorantka wykazała dobrą znajomość piśmiennictwa naukowego związanego tematycznie z realizowana problematyką badawczą.

Ocena merytoryczna pracy

Profesjonalnie przygotowany wstęp, wprowadza czytelnika w istotę podjętych przez lek. med. Katarzynę Natalię Klimiuk badań. Głównym celem badawczym była, cytując za Doktorantką, „ocena zależności pomiędzy całkowitym statusem antyoksydacyjnym, stężeniem wybranych pierwiastków we krwi, czynnikami żywieniowymi i środowiskowymi, a stanem klinicznym pacjentów z chorobą Alzheimera". Szczegółowe cele zostały opisane pod postacią sześciu zadań badawczych dotyczących oceny: sposobu żywienia, surowiczych stężeń wybranych pierwiastków, całkowitego statusu antyoksydacyjnego (TAS), wpływu zachowań żywieniowych oraz wybranych czynników antropometrycznych oraz związanych ze stylem życia na powyższe parametry biochemiczne, a także poszukiwaniem związku korelacyjnego pomiędzy badanymi parametrami biochemicznymi a stanem klinicznym pacjentów. W przypadku badań biochemicznych, uzyskane wyniki odniesiono do wyników uzyskanych w grupie kontrolnej. Precyzyjnie sformułowane cele badawcze, byłyby jeszcze bardziej wyakcentowane, gdyby przedstawiono je pod postacią hipotez badawczych. Podkreśliłoby to aspekty praktyczne i poznawcze przeprowadzonych badań. Cele badawcze pozwoliły na przeprowadzenie eksperymentu badawczego i uzyskania wyników badań, na podstawie których przeprowadzono ich analizę, dyskusję i przedstawiono wnioski końcowe. Badania przeprowadzono w grupie 110 pacjentów ze zdiagnozowaną klinicznie chorobą Alzheimera, natomiast grupę kontrolną stanowiła - 60 osobowa grupa kobiet i mężczyzn (zgoda Komisji Bioetyczne Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku nr R-I-002/210/2018). Podstawową charakterystykę badanych grup przedstawiono w tabeli 3, tylko nie wiadomo dlaczego Doktorantka nie zamieściła w niej takich parametrów jak masa ciała i wysokość ciała, skoro jednym z analizowanych parametrów jest wskaźnik wagowo-wzrostowy – czyli BMI. Ocenę sposobu żywienia przeprowadzono w oparciu o 3 dniowe wywiady żywieniowe, częstość spożycia poszczególnych grup produktów spożywczych oceniono według wytycznych Komitetu Nauki o Żywieniu Człowieka PAN, natomiast ocenę zaburzeń funkcji poznawczych – wykonując test MMSE oraz TRZ. Słowa uznania należą się Doktorantce, która do oceny poziomu spożycia wybranych składników odżywczych zastosowała zalecaną metodę punktu odcięcia (*cut off point*), a dla wybranych składników odżywczych, prawdopodobieństwo niedostatecznego spożycia. W części metodycznej dotyczącej oceny sposobu żywienia, pewien dysonans poznawczy dotyczy wykorzystania wskaźnika BMI, jako miernika realizacji zapotrzebowania na energie. Wskaźnik ten jest wykorzystywany do oceny stanu odżywienia energetyczno-białkowego, natomiast w bardziej rozbudowanej formie – rzeczywiście, do oceny stopnia zaburzeń bilansu energii, który utrzymuje się przez dłuższy okres czasu. Nie mniej jednak punktem odniesienia są normy żywienia, a w tym konkretnym przypadku, normy ustalone na poziomie średniego zapotrzebowania (EER). Surowicze stężenia składników mineralnych (Mg, Se, Cu, Zn) oraz metali ciężkich (Cd, Pb) oznaczono zwalidowaną metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA), a całkowity status antyoksydacyjny – metodą spektrofotometryczną. Zastosowana, nowoczesna metodyka badawcza została dobrana w sposób właściwy, pozwalający na uzyskanie kompleksowej odpowiedzi na postawione pytania badawcze. Szkoda jedynie, że szeroko zaprogramowane badania nie zostały udokumentowane schematem badań. Zakres analizowanych parametrów jest imponujący, co świadczy o pracowitości i dociekliwości naukowej Doktorantki. Wyniki badań zostały

zamieszczone w 26 tabelach oraz dodatkowo zilustrowane 35 rycinami, aczkolwiek w opinii recenzenta ryciny 33-35 są wykresami. Ponadto, zależności pomiędzy spożyciem DHA oraz witaminą D, a funkcjami poznawczymi ocenianymi testem MMSE powinny zostać ujęte w oddzielnej tabeli. Pomijając, zasygnalizowane już wcześniej drobne błędy edycyjne, należy podkreślić, że forma tekstowa jak i graficzna wzajemnie się uzupełniają, co ułatwia interpretację wyników badań. Jednym z kryteriów oceniających wartość merytoryczną opracowania naukowego jest nie tylko umiejętność prezentacji wyników badań, lecz także umiejętność dyskusji nad uzyskanymi wynikami, odniesienia ich do wyników badań innych autorów i sformułowanie wniosków. Przedstawione przez Doktorantkę wyniki, obejmują szeroki zakres badań. W opinii recenzenta, omówienie wyników i dyskusja *„en block"* umniejsza istotne osiągnięcia praktyczne i poznawcze kolejnych etapów przeprowadzonych badań, które powinny być omówione w oddzielnych podrozdziałach, rozdziału 5 doktoratu. Poza tym, niektóre fragmenty dyskusji wyników, z powodzeniem mogłyby wzbogacić część teoretyczną pracy. Oczywiście, powyższe uwagi nie zmieniają wysokiej oceny merytorycznej dysertacji jako całości, której dowodem są przedstawione wnioski – będące w zasadzie podsumowaniem interesujących wyników badań (za wyjątkiem wniosku nr 8). Do niewątpliwych osiągnięć badawczych Doktorantki należy zaliczyć wykazanie, że sposób żywienia pacjentów z chorobą Alzheimera jest nieprawidłowy. W diecie brakuje „kluczowych" składników odżywczych, których niedobory mogą mieć związek z nasileniem objawów otępiennych. Surowicze stężenia selenu, cynku oraz całkowity status antyoksydacyjny są niższe aniżeli w grupie kontrolnej, a udział składowej żywieniowej w wyjaśnianiu wariancji zmiennej objaśnianej jest na poziomie około 30 % (dotyczy to stężeń w surowicy Mg, Se, Cu, Zn, Cd, Pb oraz TAS). Intersującym osiągnięciem badawczym jest również wykazanie, że sprawność funkcji poznawczych wśród pacjentów z AD oceniona na podstawie testów MMSE oraz TRZ, wykazuje współzależność z potencjałem antyoksydacyjnym (dodatnia) i stężeniem Cu w surowicy krwi (ujemna), a metale ciężkie (Cd, Pb) nie odgrywają istotnej roli w rozwoju tej choroby (raczej brak związku przyczynowo-skutkowego). Uzyskane wyniki badań maja zarówno aspekty poznawcze jak i praktyczne, których kwintesencją jest wniosek nr 8 wskazujący, że dobrze zbilansowana i urozmaicona dieta powinna być składową postępowanie terapeutycznego, którego celem jest poprawa funkcji poznawczych i poprawa jakości życia pacjentów z chorobą Alzheimera.

Na podkreślenie zasługuje również fakt, że wszystkie uzyskane w trakcie badań wyniki, poddano analizie statystycznej i oceniono istotność różnic pomiędzy poszczególnymi analizowanymi zmiennymi jak i zależności, stosując odpowiednie procedury statystyczne. Dobór metod analizy statystycznej wskazuje na dobrze opanowaną przez Doktorantkę umiejętność krytycznej analizy wyników badań, opartą na wnioskowaniu statystycznym. Podsumowaniem wyników badań, są wnioski, sformułowane prawidłowo, odzwierciedlają wyniki poszczególnych etapów badań i nie wykraczają poza ich zakres.

Podsumowanie

Uważam, że przedstawiona do oceny praca jest wartościowym opracowaniem, na który składają się: sposób przygotowania i opracowanie teoretyczne tematu, staranne zaplanowanie eksperymentu, przeprowadzenie badań w oparciu o nowoczesną metodykę oraz interpretacja uzyskanych wyników badań. Doktorantka wykazała dobre przygotowanie

teoretyczne i praktyczne. Uzyskane wyniki badań mają zarówno wartości poznawcze jak i praktyczne i mogą stanowić podstawę do dalszych badań w tym zakresie. Stwierdzam, że lek. med. Katarzyna Natalia Klimiuk, zrealizowała założone cele pracy, odpowiadając na wszystkie pytania badawcze. Pracę oceniam wysoko pod względem merytorycznym, zarówno biorąc pod uwagę rangę analizowanego problemu, jak i umiejętności związane z przygotowaniem i realizacją badań, a także interpretacją wyników badań. Na szczególne podkreślenie zasługuje umiejętność kompleksowego podejścia do założonego problemu badawczego. Zawarte w recenzji uwagi mają charakter głównie redakcyjny i nie mają wpływu na ocenę końcową przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej.

W konkluzji stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. med. Katarzyny Natalii Klimiuk pt. „Całkowity status antyoksydacyjny i stężenie wybranych pierwiastków u osób z chorobą Alzheimera, spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 1789.

W związku z powyższym wnoszę do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. med., Pani Katarzyny Natalii Klimiuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego w celu uzyskania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Juliusz Przysławski