



**UNIWERSYTET MEDYCZNY
W LUBLINIE
ZAKŁAD ŻYWNOŚCI I ŻYWIENIA
20-093 LUBLIN ul. Chodźki 4a
tel. 81 535-73-52
www.umlub.pl**

Dr hab. n. farm. Wojciech Koch
Profesor Uczelni
Zakład Żywności i Żywienia
Wydział Biomedyczny
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Lublin, 18.08.2022

**Recenzja pracy doktorskiej
Mgr Pawła Kitłasa
wykonanej w Klinice Neurologii
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

Promotor: dr hab. n. med. Jan Kochanowicz

Praca na stopień doktora:

„Całkowity status antyoksydacyjny i stężenie wybranych pierwiastków u osób z chorobą Parkinsona”

Choroby neurodegeneracyjne, to nieuleczalne, postępujące uszkodzenie neuronów ośrodkowego układu nerwowego (OUN), o złożonej, niejasnej etiologii. Wśród tych schorzeń jednym z najczęściej diagnozowanych jest choroba Parkinsona (PD), która w skali globalnej zajmuje drugie miejsce pod względem częstości występowania i dotyczy 1-2% dorosłych powyżej 65 roku życia i aż ok. 4% w populacji powyżej 80 lat. Jednakże w wyniku starzenia się populacji szacuje się, że do 2030 roku liczba nowych chorych wzrośnie nawet o 50%. Patomechanizm choroby związany jest z postępującą utratą komórek dopaminergicznych w istocie czarnej mózgu oraz degeneracją układów związanych z syntezą i transportem innych neuroprzekaźników w OUN, takich jak katecholaminy czy serotonina. Efektem postępujących zmian są zaburzenia ruchowe, między innymi drżenie spoczynkowe, sztywność mięśniowa, bradykinezja, zaburzenia chodu, jak również objawy pozaruchowe, takie jak zaburzenia snu, lęk, depresja czy otępienie. Choroba jest nieuleczalna, a leczenie

farmakologiczne ma charakter wyłącznie objawowy i polega na podawaniu lewodopy, będącej prekursorem dopaminy.

Rozwój choroby związany jest z szeregiem czynników środowiskowych, epigenetycznych. płci, wieku, starzenia się organizmu, a także czynników genetycznych odpowiadających za ok. 5-15% wszystkich przypadków PD. Wśród czynników patologicznych najczęściej wymienia się nadmierną generację wolnych rodników oraz zmiany zapalne, które prowadzą do konsekwentnej degeneracji neuronów produkujących dopaminę. Liczne publikacje naukowe wykazały zaburzone poziomy witamin oraz składników mineralnych biorących udział w procesach antyoksydacyjnych w organizmie, takich jak wit. C, E, Se, Cu czy Zn, zarówno w racjach pokarmowych, jak również w osoczu badanych osób chorych. Ponadto istnieją doniesienia wskazujące na podwyższone poziomy pierwiastków powszechnie uważanych za toksyczne, takich jak Cd czy Pb, w osoczu osób chorych, co może wskazywać na udział tych substancji w procesie chorobowym. W ostatnich latach przeprowadzono wiele badań oceniających wpływ licznych czynników zewnątrzpochodnych na rozwój, prewencję oraz leczenie choroby Parkinsona. Znaczenie sposobu żywienia na przebieg choroby jest niejasne, a otrzymane wyniki badań często wykluczające. Jednakże niepodlegający żadnej dyskusji jest fakt, iż właściwe odżywianie stanowi podstawę prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego i w związku z tym dieta bogata w składniki odżywcze, zwłaszcza biorące udział w procesach antyoksydacyjnych, może mieć istotne znaczenie, zarówno w prewencji, jak i terapii choroby Parkinsona.

W związku z powyższym podjęcie badań dotyczących oceny zależności pomiędzy całkowitym statusem antyoksydacyjnym (TAS), stężeniem wybranych mikroelementów (Zn, Cu, Se) oraz metali ciężkich (Cd, Pb) w surowicy krwi osób z chorobą Parkinsona, analizą ich sposobu odżywiania a stanem klinicznym może w znaczący sposób poszerzyć stan wiedzy na temat prewencji schorzenia oraz przyczynić się do zmniejszenia nasilenia objawów choroby i poprawić jakość życia osób z chorobą Parkinsona.

Przedstawiona do oceny dysertacja doktorska liczy łącznie 170 stron, z czego 44 strony stanowi część teoretyczna. Układ pracy jest typowy dla tego typu dysertacji i zawiera wykaz stosowanych skrótów, wstęp, założenia i cel pracy, w części doświadczalnej materiał i metodykę stosowanych badań, wyniki i ich dyskusję, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo, wykaz tabel i rycin oraz załączniki, takie jak wzór świadomej zgody pacjenta, wywiad żywieniowy, kwestionariusz częstości spożycia posiłków, 24-godzinny wywiad żywieniowy oraz kwestionariusz UPDRS oceniający stan kliniczny pacjenta.

W części teoretycznej Doktorant scharakteryzował chorobę Parkinsona, skupiając się na jej epidemiologii, czynnikach ryzyka oraz etiopatogenezie i obrazie klinicznym schorzenia. Następnie opisał aktualne możliwości leczenia z podziałem na metody farmakologiczne oraz nefarmakologiczne. W dalszej części Doktorant w sposób zwięzły i treściwy scharakteryzował znaczenie żywienia w chorobie Parkinsona, zwracając szczególną uwagę na istotną rolę pobrania składników antyoksydacyjnych, białka czy wody na przebieg choroby, jak również profilaktykę. Warto zwrócić uwagę, iż Doktorant wyraźnie podkreśla, iż nie istnieje dieta, która mogłaby przeciwdziałać wystąpieniu choroby Parkinsona, natomiast istnieją badania wskazujące na rolę pewnych składników odżywczych w ograniczaniu stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego, a co za tym idzie zmniejszających prawdopodobieństwo rozwoju choroby. Ostatni fragment części teoretycznej został poświęcony skróconej charakterystyce wybranych pierwiastków (mikroelementów i metali ciężkich) mogących mieć potencjalne znaczenie w rozwoju opisywanej jednostki chorobowej.

W następnej części pracy Doktorant przedstawił cel pracy, który zakładał ocenę zależności pomiędzy całkowitym statusem antyoksydacyjnym (TAS), stężeniem wybranych pierwiastków (Zn, Cu, Se) we krwi, a czynnikami żywieniowymi i środowiskowymi (np. paleniem papierosów) oraz stanem klinicznym osób z chorobą Parkinsona. Główny cel pracy Doktorant postanowił zrealizować poprzez cztery cele szczegółowe:

1. Analizę sposobu żywienia osób z chorobą Parkinsona.
2. Porównanie stężenia pierwiastków i TAS u osób chorych i zdrowych.
3. Ocenę wpływu czynników takich jak wiek, płeć, BMI, sposób żywienia, narażenie na dym tytoniowy, na stężenie wybranych pierwiastków biorących udział w procesach antyoksydacyjnych (Se, Cu, Zn) oraz toksycznych (Cd, Pb) we krwi osób z chorobą Parkinsona.
4. Ocenę występowania zależności pomiędzy stężeniem poszczególnych pierwiastków i TAS a występowaniem otępienia i depresji oraz skalą oceny stopnia zaawansowania choroby Parkinsona

Część doświadczalna została opracowana poprawnie i zawiera opis analizowanej grupy badawczej i stosowanych metod, wyniki i ich omówienie, dyskusję oraz wnioski. Badaniami objęto łącznie 140 osób dorosłych w wieku 42-83 lat, z których 95 stanowiło grupę badaną – pacjentów leczonych z powodu choroby Parkinsona w poradni neurologicznej „Kendron” w Białymstoku. Pozostałe 45 zdrowych osób stanowiło grupę kontrolną, porównywalną w zakresie wiekowym, bez stwierdzonych chorób przewlekłych, w tym 30 kobiet i 15 mężczyzn. Warto podkreślić, że na przeprowadzenie omawianych badań uzyskano

zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku nr. R-I-002/337/2012 oraz pisemną zgodę wszystkich pacjentów biorących udział w badaniach. Wśród badanych osób przeprowadzono 24-godzinne wywiady żywieniowe, jak również oceniono sposób żywienia za pomocą oceny jadłospisów oraz kwestionariusza częstości spożycia wyszczególnionych grup produktów spożywczych (FFQ). Następnie wybrane parametry jadłospisów (z uwzględnieniem suplementów diety) oceniono przy pomocy Albumu Fotografii Produktów i Potraw oraz programu komputerowego Dieta 6.0. Dodatkowo od osób z grupy badanej oraz kontrolnej pobrano krew żylną, a następnie oznaczono w niej zawartość Cu, Se, Zn, Cd i Pb z wykorzystaniem metody AAS z atomizacją płomieniową lub elektrotermiczną oraz określono parametr TAS z zastosowaniem techniki spektrofotometrycznej. Zastosowana technika oznaczania mikroelementów została sprawdzona pod kątem dokładności z zastosowaniem certyfikowanego materiału odniesienia Seronorm 1406264 – obliczono % błędu oraz współczynnik zmienności. Warto podkreślić, iż zastosowana procedura oznaczania pierwiastków była odpowiednia biorąc pod uwagę rodzaj oznaczanych pierwiastków oraz analizowany materiał, co potwierdzają wyniki kontroli dokładności metody przedstawione w Tabeli 5. Otrzymane wyniki zostały poddane analizie statystycznej z zastosowaniem testów parametrycznych i nieparametrycznych, co zostało dokładnie opisane w rozdziale 3.6.

Wyniki uzyskanych badań Doktorant bardzo czytelnie i przejrzysto przedstawił w formie pięciu głównych rozdziałów dotyczących wskaźników masy ciała, oceny sposobu żywienia osób z chorobą Parkinsona, parametru TAS krwi osób z grupy badanej i kontrolnej, stężenia wybranych pierwiastków antyoksydacyjnych i toksycznych w ich surowicy oraz stężenia TAS i pierwiastków we krwi osób chorych w odniesieniu do ich nawyków żywieniowych. Otrzymane wyniki zostały zestawione w postaci tabel oraz rycin, co znacznie ułatwia ich interpretację. Łącznie dysertacja zawiera 34 tabele oraz 46 rycin. W oparciu o uzyskane rezultaty badań Pan mgr Paweł Kitlas przeprowadził dyskusję odnosząc ją również do efektów badań opisanych w piśmiennictwie zagranicznym i krajowym. Muszę przyznać, że pomimo bardzo dużej liczby uzyskanych danych oraz wnikliwej analizy statystycznej dyskusja została przeprowadzona w sposób wzorowy, gdzie Doktorant bardzo trafnie zwrócił uwagę na najważniejsze wnioski płynące z otrzymanych wyników. Dobór i liczba pozycji piśmiennictwa (aż 289 pozycji) jest typowy dla tego typu opracowań, a sposób cytowania jest prawidłowy. Warto zwrócić uwagę, iż znaczna część pozycji piśmiennictwa pochodzi z ostatnich 10 lat.

Tak duża liczba uzyskanych danych w połączeniu z wnikliwą analizą statystyczną pozwoliła na sformułowanie licznych wniosków:

1. U osób z chorobą Parkinsona zaobserwowano obniżony całkowity status antyoksydacyjny (TAS) surowicy w porównaniu do osób zdrowych, a palenie tytoniu dodatkowo obniżało wartość tego parametru.
2. Stężenie Zn i Se u osób chorych było obniżone i istotnie spadało wraz z wiekiem.
3. Wykazano związek pomiędzy obniżonym stężeniem Zn w surowicy, a występowaniem depresji i objawów otępienia u osób z chorobą Parkinsona.
4. U osób z chorobą Parkinsona zaobserwowano wyższe molowe stosunki Cu/Zn i Cu/Se oraz niższy stosunek Zn/Cd we krwi, co może świadczyć o występującym stresie oksydacyjnym.
5. Stężenie pierwiastków toksycznych (Cd i Pb) we krwi osób z chorobą Parkinsona nie różniło się istotnie od osób zdrowych. Istotnie wyższą zawartość ołowiu zaobserwowano u mężczyzn. Ponadto wykazano związek pomiędzy wyższym stężeniem kadmu we krwi, a występowaniem depresji.
6. Wykazano, iż sposób żywienia badanej grupy osób z chorobą Parkinsona był nieprawidłowy i wymagał modyfikacji. Stwierdzono:
 - niewystarczającą podaż energii, tłuszczów, w tym wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz wody
 - niedoborowe spożycie witamin D i E, folianów oraz wapnia
 - niedostateczne spożycie magnezu w grupie mężczyzn
 - nadmierne spożycie sodu i fosforu
7. Wykazano, iż nawyki żywieniowe w 16-26% wpływały na parametr TAS oraz badanych pierwiastków we krwi osób z chorobą Parkinsona.
8. Modyfikacja sposobu odżywiania, w tym zwłaszcza wyrównanie niedoborów składników odżywczych oraz dostarczenie odpowiedniej ilości substancji o właściwościach antyoksydacyjnych, może wpływać na zmniejszenie nasilenia objawów choroby i poprawić jakość życia osób z chorobą Parkinsona.

Układ pracy oraz opis poszczególnych etapów badań został przedstawiony w sposób bardzo przejrzysty, co znacząco ułatwia zapoznanie się z tak dużą liczbą zestawionych danych. Z obowiązku recenzenta pozwolę sobie zwrócić uwagę na niewielkie błędy i nieścisłości:

1. Autor nie ustrzegł się licznych błędów literowych, zwłaszcza w części teoretycznej, które powinny zostać wyeliminowane na etapie technicznego przygotowania dysertacji.
2. Przy niektórych rycinach należałoby podać źródła, z których pochodzą przytaczane dane.
3. W części teoretycznej w rozdziale 1.3.1 „Znaczenie stresu oksydacyjnego w chorobie Parkinsona” Autor błędnie wskazuje, że pierwiastki śladowe Cu, Zn czy Se pełnią rolę nieenzymatycznych „zmiataczy wolnych rodników”, podczas gdy tak naprawdę substancje te pełnią rolę antyoksydantów tylko jako kofaktory odpowiednich enzymów o takich właściwościach, same zaś nie wykazują takiej aktywności, a jony Cu w pewnych warunkach działają wręcz prooksydacyjnie.
4. Autor w części teoretycznej powinien podkreślić, iż o ile reakcja Habera-Weissa jest reakcją spontaniczną, o tyle reakcja Fentona jest reakcją katalizowaną, a silnymi jej katalizatorami są jony metali przejściowych m.in. Cu. W związku z tym jeden z istotnych mechanizmów rozwoju PD wskazuje na udział nie tylko jonów Fe, ale również na podwyższone stężenie jonów Cu jako jednego z czynników mających znaczenie w rozwoju i progresji choroby.
5. W rozdziale 1.8 „Żywienie w chorobie Parkinsona” Autor podaje jedynie ogólne wskazówki dotyczące żywienia osób chorych, wskazując których składników należy spożywać więcej, a których mniej, nie precyzuje jednak dokładnych poziomów spożycia.
6. Podobnie jak w rozdziale 1.8, również w rozdziałach 1.9 oraz 1.9.1, Autor charakteryzuje znaczenie oraz podaje źródła substancji mineralnych, zarówno tych niezbędnych, jak również toksycznych, jednak w żadnym miejscu nie podaje zalecanych norm pobrania lub odpowiednich limitów spożycia z żywnością. Ponieważ znaczna część badań została wykonana we współpracy z Zakładem Bromatologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku uważam, iż podanie takich norm w części teoretycznej niniejszej rozprawy doktorskiej jest wręcz obowiązkowe.
7. Recenzent nie rozumie również, dlaczego w rozdziale 3.5.2 Autor w opisie aparatury i sprzętu laboratoryjnego wymienia mineralizator mikrofalowy, jeśli z opisu oznaczeń wynika, iż poszczególne pierwiastki zostały oznaczone bezpośrednio z odpowiednio rozcieńczonej surowicy lub krwi pełnej bez przeprowadzania uprzedniej mineralizacji.

8. W tabelach 9 i 10 spożycie folianów wyrażono w nieprawidłowej jednostce. Powinny być μg , a nie mg .

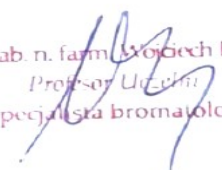
Wymienione powyżej nieścisłości i usterki nie obniżają wartości merytorycznej pracy, która zawiera wiele elementów świadczących o tym, że jej Autor nabył umiejętności potrzebne w pracy naukowej, zarówno w zakresie planowania i prowadzenia badań, analitycznego podejścia do nowych metod i zjawisk, jak i ich oceny oraz interpretacji.

Podsumowując pragnę podkreślić wielokierunkowość prowadzonych przez Pana mgr Pawła Kitlasa badań związanych z oceną zależności pomiędzy sposobem odżywiania, pobraniem wybranych składników odżywczych oraz ich stężeniem w surowicy w grupie osób z chorobą Parkinsona w powiązaniu z ich stanem klinicznym. Na uwagę zasługuje również próba skorelowania potencjału antyoksydacyjnego surowicy krwi ze stanem klinicznym osób chorych oraz wpływu narażenia na dym tytoniowy na stężenie wybranych pierwiastków i parametr TAS w grupie osób chorych. Wykorzystane w pracy metody i narzędzia badawcze spełniają wysokie kryteria i zostały umiejętnie użyte. Badania przeprowadzone w ramach przedstawionej do oceny Dysertacji, dzięki poprawnemu planowaniu, odpowiedniemu doborowi grup badanych oraz zastosowaniu nowoczesnej aparatury są na wysokim poziomie. Doktorant zrealizował postawione na wstępie cele, a recenzowana rozprawa doktorska mgr Pawła Kitlasa pt. **„Całkowity status antyoksydacyjny i stężenie wybranych pierwiastków u osób z chorobą Parkinsona”** w pełni odpowiada warunkom określonym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 roku poz. 1789 ze zm.), Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 roku w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. z 2018 roku poz. 261), w związku z art. 179 ust. 2 i 3 ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku *Przepisy wprowadzające ustawę- Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* ((Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669) oraz Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 roku w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin artystycznych (Dz. U. z 2018 roku poz. 1818).

W związku z powyższym przedkładam Panu prof. dr hab. Sławomirowi Terlikowskiemu, Dziekanowi Kolegium Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz Senatowi Uczelni, wniosek o dopuszczenie mgr Pawła Kitlasa do dalszych etapów przewodu doktorskiego, a także ze względu na interdyscyplinarność

przeprowadzonych badań w ramach niniejszej pracy oraz wysoką wartość poznawczą z nich płynącą, o rozważenie przez Pana Dziekana możliwości przyjęcia jej z wyróżnieniem.

Dr hab. n. farm. Wojciech Koch, prof. uczelni


Dr hab. n. farm. Wojciech Koch
Profesor Uczelni
-specjalista bromatolog-