

Białystok 08.10.2023

## Opinia

O rozprawie doktorskiej mgr Zofii Kingi Bytowskiej pt. "Wpływ 12 tygodniowej suplementacji witaminą D<sub>3</sub> połączonej z aktywnością fizyczną na wybrane parametry krwi, parametry funkcjonalne i jakość życia u pacjentów z chorobą Parkinsona leczonych metodą stymulacji głębokiej mózgu"

Promotorem jest dr hab. Jan Jacek Kaczor

Promotorem pomocniczym jest dr n. med. Witold Libionka

W skład rozprawy doktorskiej wchodzi trzy publikacje, a mianowicie:

1. Chromiec, P. A., Urbaś, Z. K.\*, Jacko, M., & Kaczor, J. J. (2021). The Proper Diet and Regular Physical Activity Slow Down the Development of Parkinson Disease. *Aging and disease*, 12(7), 1605–1623. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.0123>
2. Bytowska, Z. K.\*, Korewo-Labelle, D., Berezka, P., Kowalski, K., Przewłócka, K., Libionka, W., Kloc, W., & Kaczor, J. J. (2023). Effect of 12-Week BMI-Based Vitamin D3 supplementation in Parkinson's Disease with Deep Brain Stimulation on Physical Performance, Inflammation, and Vitamin D Metabolites. *International journal of molecular sciences*, 24(12), 10200. <https://doi.org/10.3390/ijms241210200>
3. Bytowska, Z.K.\*; Korewo-Labelle, D.; Kowalski, K.; Libionka, W.; Przewłócka, K.; Kloc, W.; Kaczor, J.J. Impact of 12 Weeks of Vitamin D3 Administration in Parkinson's Patients with

Deep Brain Stimulation on Kynurenine Pathway and Inflammatory Status. *Nutrients* 2023, 15, 3839. <https://doi.org/10.3390/nu15173839>

Wszystkie prace opublikowano w czasopismach międzynarodowych. Łączny IF tego cyklu wynosi 18,9 a liczba punktów MEiN 420. W dokumentacji znajdują się też oświadczenia wszystkich współautorów o ich udziale w wykonaniu tych prac. Treść tych oświadczeń świadczy jednoznacznie o wiodącym udziale Doktorantki w powstaniu publikacji będących podstawą rozprawy.

Rozprawę poprzedza dwujęzyczne streszczenie. Jej częścią jest też „Wprowadzenie”. Ten rozdział składa się, stosownie do celu pracy, z czterech części. W części pierwszej (Choroba Parkinsona) przedstawiono podstawowe informacje o tym schorzeniu. W części drugiej wprowadzono czytelnika w zagadnienie stymulacji głębokiej mózgu, w części trzeciej omówiono metabolizm witaminy D zaś w części czwartej omówiono cykl kinureninowy z odniesieniem do choroby Parkinsona.

Celem cyklu prac tworzących rozprawę jest (cytuję Autorkę):

1. Ocena wpływu aktywności fizycznej i stosowania suplementów diety na przebieg PD.
2. Zbadanie efektywności suplementacji witaminą D3 dawką dobraną do BMI pacjentów z PD z DBS na stężenie metabolitów witaminy D w surowicy.
3. Sprawdzenie czy suplementacja witaminą D3 dawką dobraną do BMI pacjentów może wpływać na parametry funkcjonalne u pacjentów z PD leczonych przy użyciu DBS.
4. Określenie czy suplementacja witaminą D3 dawką dobraną do BMI pacjentów może wpływać korzystnie na stężenie markerów stanu zapalnego i metabolitów cyklu kinureninowego w surowicy u pacjentów z PD leczonych przy użyciu DBS.

5. Identyfikacja roli suplementacji witaminą D3 jako wspomaganie leczenia w PD u pacjentów z DBS.

Sądzę, że cele sformułowano trafnie i czytelnie a dalsza lektura rozprawy dowodzi, że zostały one zrealizowane.

Publikacja pierwsza jest pracą przeglądową. Opublikowano ją w prestiżowym czasopiśmie "Aging and Disease" (IF 7,4). W pracy tej przedyskutowano znaczenie różnych typów wysiłku fizycznego oraz diety w spowalnianiu rozwoju choroby Parkinsona. Omówiono następujące formy wysiłku: ćwiczenia aerobowe, Nordic walking, trening siłowy/oporowy, choreoterapię oraz Tai Chi. Przedstawiono przekonujące dowody na to, że wysiłek jest jednym z czynników opóźniających postęp choroby Parkinsona. Przedstawiono też opinie wskazujące na zasadność podawania pacjentom witamin z grupy B, witaminy D, witamin o działaniu antyoksydacyjnym, spożywania diety śródziemnomorskiej, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, produktów mlecznych oraz takich naturalnych substancji jak: kurkumina, luteolina, genisteina, kwercetyna i innych. Omówiono mechanizmy działania tych preparatów i wysiłku w badanym schorzeniu. W tabeli przedstawiono wyniki 12 badań klinicznych, w których testowano wpływ diety i suplementów w leczeniu choroby Parkinsona. Pracę tą przygotowano w oparciu o 153 pozycje piśmiennictwa. Uważam, że jest to publikacja o bardzo wysokim poziomie merytorycznym. Autorzy dysponują dużą wiedzą na omawiany temat i umiejętnościami przekazania tej wiedzy w formie czytelnej publikacji. Podzielam pozytywne opinie Recenzentów oraz pozytywną decyzję Redaktora „Aging and Disease” odnośnie druku omawianej pracy.

Celem drugiej pracy cyklu było zbadanie wpływu suplementacji witaminą D u pacjentów z chorobą Parkinsona leczonych metodą głębokiej stymulacji mózgu. Czas trwania choroby

wynosił 8-13 lat zaś czas trwania leczenia tą metodą wynosił 3-5 lat. Badania prowadzono w okresie jesienno-zimowym, tak by uniknąć wpływu nadmiernego i niekontrolowanego nasłonecznienia na poziom witaminy D w ustroju. Pacjentów podzielono na dwie grupy. Jedna grupa otrzymywała placebo zaś grupa druga witaminę D. Witaminę tą podawano w dawce dostosowanej do indeksu masy ciała (BMI). Jest to kluczowe podejście, które zapewniało zbliżony w obu grupach przyrost stężenia witaminy D w ustroju. Suplementacja trwała 12 tygodni. Pacjenci wykonywali trzykrotnie klasyczne testy funkcjonalne: przed suplementacją oraz po 6 i 12 tygodniach suplementacji. We krwi oznaczano poziomy 25(OH)<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>2</sub>, 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> oraz epi-25(OH)D<sub>3</sub>. Do oznaczeń zastosowano metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężoną z tandemową spektrometrią masową. Oznaczano też poziom CRP (jest marker ogólnego stanu zapalnego). Przed suplementacją stwierdzono, że poziom witaminy D był niższy od wartości optymalnych zaś po 12 tygodniach suplementacji uzyskano poziom optymalny. Poziom CRP nie uległ istotnej zmianie. Wyniki testów funkcjonalnych wykazały jednoznacznie poprawę wyników. W przebiegu choroby Parkinsona występują uciążliwe a często groźne w skutkach zaburzenia motoryki, w tym upadki. Jak wykazano w niniejszej pracy suplementacja witaminą D w dawce stosownej do BMI poprawia motorykę a tym samym zmniejsza ryzyko powikłań a więc wspomaga leczenie zasadnicze. I jest to, oprócz wartości naukowej, korzystne praktyczne osiągnięcie tej pracy.

Celem trzeciej pracy jest zbadanie wpływu suplementacji witaminą D pacjentów z chorobą Parkinsona, leczonych metodą głębokiej stymulacji mózgu, na zachowanie się metabolitów powstających w trakcie degradacji kinureniny. Kinurenina jest głównym metabolitem tryptofanu. W procesie rozkładu kinureniny powstają związki o działaniu neuroprotekcijnym jak też związki o działaniu neurotoksycznym. W pełni uzasadnia to zbadanie wpływu suplementacji witaminą D na zachowanie się metabolitów tego aminokwasu u pacjentów z chorobą Parkinsona. Zbadano także poziom we krwi dwóch związków o działaniu prozapalnym, a mianowicie interleukiny 6 (IL-6) oraz

czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF $\alpha$ ). Czas suplementacji wyniósł 12 tygodni. Dawkę witaminy dobierano stosownie do indeksu masy ciała (BMI). Oznaczano stężenie we krwi 25(OH)D<sub>3</sub>, 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, kinureny (KYN), kwasu kinureninowego (KYNA), kwasu 3-hydroksykinureninowego (3-HK), kwasu ksanturenowego (XANA), kwasu pikolinowego a także IL-6 oraz TNF $\alpha$ . Ostatnie dwa związki oznaczano metodą immunoenzymatyczną za pomocą stosownych kitów. Do oznaczeń innych związków zastosowano, podobnie jak w pracy drugiej, technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią masową. Uzyskano dużą liczbę wyników i dokonano stosownych obliczeń statystycznych. Do najważniejszych wyników, z punktu widzenia postępu schorzenia zasadniczego, należy stwierdzenie wzrostu stężenia 3-HK (jest to metabolit o działaniu neurotoksycznym) u pacjentów, którzy otrzymywali placebo oraz zmniejszenie szybkości narastania stężenia tego związku u pacjentów, którzy otrzymywali witaminę D. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy stężeniem TNF $\alpha$  a stężeniem kalcydiolu a także stężeniem 24,25(OH)<sub>2</sub>, metabolitu witaminy D. Stwierdzono też dodatnią korelację pomiędzy stężeniem TNF $\alpha$  a 3-HK. Wyniki niniejszej publikacji poszerzają naszą wiedzę o neuroprotekcijnym działaniu witaminy D w chorobie Parkinsona. Wyniki te wzmacniają argumenty poprzedniej pracy za utrzymywaniem optymalnego poziomu witaminy D u pacjentów z chorobą Parkinsona.

## **Podsumowanie**

Mgr Zofia Kinga Bytowska przygotowała rozprawę doktorską w oparciu o cykl trzech prac ściśle związanych tematycznie: jedną pracę przeglądową i dwie prace doświadczalne. W pracach doświadczalnych jest autorem pierwszym zaś w pracy przeglądowej jest autorem drugim. Badania wykonano w grupie pacjentów z chorobą Parkinsona leczonych metodą głębokiej stymulacji mózgu. Na podkreślenie zasługuje fakt, że są to publikacje duże nie zaś przyczynkarskie. Wszystkie trzy publikacje ukazały się w czasopiśmie międzynarodowych o

wysokim IF oraz wysokiej liczbie punktów MEiN. Łączny IF tego cyklu wynosi 18,9 a liczba punktów MEiN 420. Lektura tych publikacji a także wysokie wskaźniki naukometryczne pozwalają na bardzo wysoką ocenę ich wartości naukowej tego dorobku. Ważne są też aspekty praktyczne wynikające z uzyskanych wyników. Wykazano mianowicie, że doprowadzenie poziomu witaminy D we krwi pacjentów z chorobą Parkinsona do poziomu optymalnego wywiera działanie neuroprotekcyjne. Manifestuje się to poprawą zdolności motorycznych i zdolności do utrzymania równowagi u badanych chorych. Składa się na to również stwierdzone w trzeciej pracy cyklu zmniejszenie tempa przyrostu stężenia katabolitu tryptofanu o nazwie kwas hydroksykinureninowy w grupie suplementowanej witaminą D. Związek ten wywiera działanie neurotoksyczne. Uzyskane wyniki skłoniły Doktorantkę do sformułowania ostrożnego zalecenia suplementacji witaminą D jako preparatem wspomagającym w leczeniu choroby Parkinsona.

Uważam, że mgr Zofia Kinga Bytowska przedstawiła rozprawę doktorską o bardzo wysokiej wartości naukowej. W związku z tym **zgłaszam jednoznaczny wniosek o nadanie toku** dalszym etapom Jej przewodu doktorskiego. **Zgłaszam też wniosek o wyróżnienie rozprawy.**

Prof. dr hab. n. med. Jan Górski

Uzasadnienie wniosku o wyróżnienie rozprawy

Mgr Zofia Kinga Bytowska przygotowała bardzo dobrą rozprawę doktorską. O wysokiej wartości naukowej Jej rozprawy pisałem wyżej. Wskazywałem też na aspekt praktyczny

uzyskanych wyników. Dodam też, że bardzo starannie przygotowała wszystkie inne części rozprawy, w tym autoreferat. Badania przeprowadzono u pacjentów w zaawansowanym stadium choroby Parkinsona. U pacjentów tych występują, oprócz zaburzeń motorycznych, często zmiany nastroju. Utrudniało to niewątpliwie nawiązanie z nimi współpracy, zwłaszcza w trakcie wykonywania testów funkcjonalnych. Kandydatka nie jest lekarzem. A więc musiała wykazać się bardzo dużą umiejętnością współpracy nie tylko z pacjentami lecz również z neurochirurgami i psychologiem. Są to więc prace zespołowe, których pomysłodawcą, koordynatorem i głównym wykonawcą była Kandydatka.

Z przytoczonych wyżej powodów uważam, że rozprawa doktorska mgr Zofii Kingi Bytowskiej zasługuje na wyróżnienie.

Prof. dr hab. n. med. Jan Górski