

Zabrze, 11.10.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Wojdy pt: *Wpływ diety śródziemnomorskiej z kontrolowaną podażą kwasów tłuszczowych omega-3 na profil lipidowy pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną*, wykonanej pod kierunkiem dr hab. Zdzisława Kochana

Katedra i Zakład
Biochemii

Wydział Nauk
Medycznych w Zabrzu

41-808 Zabrze ul.
Jordana 19
www.sum.edu.pl

Prof. dr hab. n. med. i n. o
zdr. Jolanta Zalejska-Fiolka
tel.: (+48 32) 272 23 18
jzalejskafiolka@sum.edu.pl

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32) 272 23 18
fax: (+48 32) 272 23 18

biochemz@sum.edu.pl

Lekami pierwszego rzutu w leczeniu pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną są statyny. Hamują one reduktazę HMG-CoA regulującą szybkość syntezy cholesterolu w komórkach, co ostatecznie skutkuje zmniejszeniem stężenia cholesterolu w surowicy. Prowadzi to do zmniejszenia jego zawartości w wątrobie, czego następstwem jest zwiększenie ekspresji receptora dla LDL, co z kolei powoduje obniżenie stężenia LDL-C w surowicy. W badaniach nad zastosowaniem statyn udokumentowano obniżenie częstości zgonów z powodu choroby wieńcowej, zgonów z dowolnej przyczyny, zawału serca, zabiegów rewaskularyzacyjnych, udaru mózgu i choroby tętnic obwodowych. Są to leki dobrze tolerowane przez większość pacjentów, jednak przed ich włączeniem należy wykonać oznaczenie aktywności enzymów wątrobowych (AST, ALT) oraz kinazy fosfokeratynowej. Podwyższone wyniki tych badań, co prawda nie powinny dyskwalifikować pacjenta do leczenia, jednak należy zachować szczególną ostrożność m.in. z uwagi na ich hepatotoksyczność. Należy także wspomnieć, że nie wszystkie osoby dobrze tolerują terapię statynami. Stąd poszukiwanie i wdrażanie do terapii substancji pochodzenia naturalnego, które mogą wspierać farmakoterapię osób chorych oraz działać prewencyjnie u każdego człowieka jest tak bardzo istotne. Z pewnością do grupy takich związków chemicznych występujących naturalnie należą wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny omega-3. Wykazano, że w dużych dawkach kwasy dokozaheksaenowy (DHA) i eikozapentaenowy (EPA) obniżają stężenie triacylogliceroli w surowicy poprzez zmniejszenie wydzielania przez wątrobę lipoprotein w nie bogatych. Z uwagi na naturalne występowanie, mogą one być alternatywą dla fibratów lub kwasu nikotynowego w leczeniu hipertriglicerydemii, a szczególnie chylomikronemii. Mogą także wywierać korzystny wpływ na profil lipidowy osób z hipercholesterolemią rodzinną.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska zatytułowana „*Wpływ diety śródziemnomorskiej z kontrolowaną podażą kwasów tłuszczowych omega-3 na profil lipidowy pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną*” napisana przez mgr Annę Wojdę, a wykonana pod kierunkiem dr hab. Zdzisława Kochana, zdecydowanie wpisuje się w ten nurt badań. Uważam, że stanowi cenny wkład w badania nad wpływem diety bogatej w kwasy tłuszczowe z rodziny omega-3 na profil lipidowy pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną.

Dysertacja została napisana starannie, w typowy i poprawny dla tego typu prac sposób. Obejmuje ona 86 stron, w tym z zachowaniem poprawnej proporcji pomiędzy wstępem (12 stron) a dyskusją (20 stron). Została napisana w oparciu o 142 dobrze dobrane i zacytowane pozycje literaturowe, z czego blisko 70% to publikacje z ostatnich 10-ciu lat.

Świadczy to o aktualności i ważkości podejmowanego przez Doktorantkę zagadnienia. Dysertacja zawiera także wykaz skrótów użytych w tekście, tabel, wykresów i grafik wraz z numerem strony na której się znajdują – co bardzo ułatwia odbiór i analizę pracy. Ponadto zawiera, wstęp, cel pracy, materiały i metodyki, rodzaj zastosowanych testów statystycznych, wyniki, dyskusję i wnioski oraz streszczenie w języku polskim i angielskim, jak również istotne dla pracy treści informacji o badaniu i zgody dla pacjenta.

We wstępie Autorka w oparciu o najnowsze dane piśmiennictwa, w esencjonalny i przejrzysty sposób, przedstawiła informacje dotyczące chorób układu krążenia słusznie konkludując, że często brak świadomości pacjenta na temat własnego stanu zdrowia w aspekcie zaburzeń lipidowych odwleka w czasie zastosowanie odpowiedniego leczenia lub/i wprowadzenia zmian w stylu życia, co przyczynia się do zwiększenia ryzyka wystąpienia zgonu z powodów sercowo-naczyniowych. Z uwagi na temat pracy, Autorka skupiła się na hipercholesterolemii rodzinnej. Przedstawiła nie tylko charakterystykę tej choroby wraz z danymi epidemiologicznymi i demograficznymi, ale także w sposób wystarczający diagnostykę i stosowane metody leczenia, obejmujące różne rozwiązania terapeutyczne. Autorka słusznie zauważyła, że brak widocznych lub/i uciążliwych objawów choroby często przyczynia się do bagatelizowania stwierdzonego w badaniach podwyższonego stężenia cholesterolu, co zdecydowanie wydłuża czas postawienia prawidłowej diagnozy i rozpoczęcia właściwego leczenia. Zgadzam się również z Autorką w kwestii wdrożenia badań przesiewowych w kierunku FH, jest to tym istotniejsze, że ta dziedziczna autosomalnie choroba genetyczna jest jedną z bardziej rozpowszechnionych. Szacuje się bowiem, że na świecie liczba osób nią dotkniętych wynosić może od 14 do 34 milionów, a w Polsce może dochodzić do 140 tysięcy, z czego zdiagnozowane przypadki to jedynie około 5% tej populacji. W zakresie metod leczenia FH, Autorka opisała głównie stosowane leki, włączając ich działania niepożądane, w tym statyny, będące inhibitorami reduktazy HMG-Co – enzymu regulatorowego w biosyntezie cholesterolu, leki hamujące wchłanianie cholesterolu (ezetymib łączony często z terapią statynami) i zatrzymujące krążenie kwasów żółciowych (sekwestranty), jak również wspomniała o innych rozwiązaniach terapeutycznych do których zalicza się rzadko stosowane inhibitory PCSK9 (ewolokumab). Należy zauważyć, że jest to rozwiązanie dla pacjentów nietolerujących statyn. Opisała także, mimo kosztowności i wielu ograniczeń, terapię LDL-aferezą. W mojej opinii zabrakło w tym miejscu informacji nt. kwasu nikotynowego, którego przyjmowanie w dawkach farmakologicznych wpływa korzystnie na wszystkie frakcje lipidów i lipoprotein; Fibratów, które znajdują także zastosowanie w leczeniu pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną (przy towarzyszącej hipertriglicydemii), czy stanoli i steroli - substancji pochodzenia roślinnego, stosowanych w postaci dodatków do margaryn, jogurtów i soków, dla których udowodniono hipolipemizujące działanie.

W rozdziale 3.3 skupiła się na wpływie sposobu żywienia na profil lipidowy opisując w szczególności dietę śródziemnomorską, której wdrożenie przez pacjentów dotkniętych hipercholesterolemią skutkuje poprawą parametrów lipidowych i stanu zdrowia.

Wdrożenie tej diety także przez osoby z innymi zaburzeniami metabolicznymi oraz zdrowe, przyczyniłoby się także do istotnej poprawy ich zdrowia i jakości życia.

Autorka zwróciła także uwagę na konieczne modyfikacje diety, wynikające z miejsca zamieszkania, a więc podyktowane dostępnością do pewnych produktów żywnościowych. Zamieściła także w tym miejscu rekomendacje żywieniowe wg. Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego Państwowego Zakładu Higieny w ujęciu graficznym.

W rozdziale tym zabrakło mi kilku chociaż zdań na temat wpływu aktywności fizycznej i istotności łączenia jej z odpowiednią dietą. Nie było to co prawda podstawą dysertacji, ale stanowi bardzo ważny czynnik prowadzący do poprawy stanu zdrowia pacjentów.

Głównym celem pracy była szczegółowa ocena nawyków żywieniowych pacjentów z FH oraz analiza zmian profilu lipidowego i glukozy przed i po włączeniu 6-cio miesięcznej interwencji dietetycznej opartej na zasadach diety typu śródziemnomorskiego. Za cele dodatkowe Autorka postawiła przygotowanie protokołu dietetycznego oraz ocenę wiedzy żywieniowej przed rozpoczęciem interwencji dietetycznej wśród obu grup – kontrolnej (HV) i badanej (FH) przy użyciu dwóch kwestionariuszy żywieniowych. Autorka postawiła także dwie hipotezy badawcze: „Pacjenci FH mają lepsze nawyki żywieniowe oraz wyższą świadomość żywieniową niż osoby zdrowe” oraz „Dieta typu śródziemnomorskiego z kontrolowaną podażą kwasów tłuszczowych omega-3 redukuje stężenie cholesterolu frakcji LDL u osób z hipercholesterolemią rodzinną”.

W kolejnym rozdziale „Materiały i metodyka” Doktorantka przedstawiła w bardzo przejrzysty i dokładny sposób zaplanowania i przeprowadzenia badań. Zabrakło mi jednak w tym miejscu wyraźnego podziału na grupy badane i zgody Komisji Bioetycznej.

Pozyskiwanie pacjentów odbywało się w Krajowym Centrum Hipercholesterolemii Rodzinnej w Gdańsku, jedynym i za razem bardzo dobrym ośrodku. Bardzo dobrze dobrała kryteria włączenia i wyłączenia z badań, które z pewnością były przyczyną stworzenia jednorodnych grup, a jednocześnie tłumaczą małą liczebność grup kontrolnej i badanej. Należy podkreślić, że poddanie się zaplanowanej przez Autorkę interwencji było bardzo wymagające, a jako praktykujący dietetyk mam pełną świadomość, iż pacjentom ogromnie trudno jest dotrzymać warunków udziału w programach żywieniowych. Niezdrowe nawyki żywieniowe są najczęściej bardzo mocno zakorzenione i nawet świadomość choroby i w związku z tym konieczności poddania się interwencji żywieniowej, nie stanowią podstaw do jej kontynuowania.

Analizując wszystkie punkty zastosowanych metod uważam, że Autorka zaplanowała badania w sposób prawidłowy, umożliwiający analizę i realizację założonego celu pracy. Świadczy to o dużej samodzielności i dojrzałości naukowej Doktorantki. Równocześnie należy zauważyć, że Autorka włożyła ogrom pracy w przedstawiony eksperyment.

Poproszę jednak o wyjaśnienie podczas obrony następujących kwestii:

1. Braku informacji na temat zgody Komisji Bioetycznej, jest to tym bardziej istotne, że oprócz kwestionariuszy, badań antropometrycznych i pogłębionego wywiadu żywieniowego, pobierana była od pacjentów dwukrotnie krew.
2. Braku informacji nt. stosowanego leczenia lub jego braku.
3. Czasu przechowywania próbek do momentu wykonania oznaczeń. Na stronie 18 podano informacje, że rekrutacja trwała od 2017 do 2020 roku. Stąd moja wątpliwość dotycząca temperatury przechowywania próbek – dlaczego nie przechowywano ich w -80°C ?
4. Informacji często istotne z analitycznego punktu widzenia, a mianowicie, czy badania były wykonywane jednocześnie, czy krótko po pobraniu materiału?
5. Ilości poszczególnych składników w przyjmowanej diecie prezentowanych w tabelach. Czy było to jedynie szacowane na podstawie wywiadu żywieniowego?
6. Uzasadnienia częstotliwości wizyt kontrolnych. Wiadomo, że taka interwencja żywieniowa, oprócz przekazania wskazówek żywieniowych wymaga stałego motywowania pacjenta do wytrwania w badaniu.
7. Tego w jakich warunkach przeprowadzany był wywiad – czy pacjenci sami wypełniali ankiety w domu, czy w obecności personelu zaangażowanego w pracę lub samej Doktorantki.

Pragnę także przedstawić pewne sugestie istotne w razie kontynuacji badań:

1. Wprowadzenie pytań dotyczących aktywności fizycznej, palenia tytoniu, stosowania używek. Czynniki te w sposób istotny mogą wpływać na wyniki badań biochemicznych.
2. Wykonywanie pomiarów ciśnienia tętniczego.
3. Zastosowanie skali Pol-SCORE do oszacowania ryzyka zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych. Wynik może stanowić dodatkową motywację dla pacjenta.

Powyższe uwagi mają charakter informacyjno/pomocniczy i nie wpływają na moją pozytywną ocenę pracy. Uważam, że badania zostały przeprowadzone należyście, z wykorzystaniem uznanych narzędzi, co świadczy o dojrzałości naukowej Autorki pracy.

Wyniki badań zostały przedstawione z użyciem wykresów, grafik i tabel na 21 stronach. Biorąc pod uwagę założenia oraz zastosowane metody badawcze należało się spodziewać ogromnej ilości uzyskanych wyników i tak faktycznie było. Jednak pomimo ich ilości, zostały przedstawione prawidłowo i równocześnie świadczą o ogromie wykonanej przez Autorkę pracy. Wyniki stanowiły także dobrą podwalinę do przeprowadzonej dyskusji i wyciągnięcia wniosków.

Moja uwaga dotyczy stężenia cholesterolu frakcji HDL. Proszę o wytłumaczenie zaobserwowanego obniżenia stężenia HDL-C w grupie zdrowych pacjentek po interwencji żywieniowej. Biorąc pod uwagę założenia badania, wynik ten mnie zadziwił.

O unikatowości dysertacji świadczą już pierwsze dwa zdania otwierające dyskusję. Autorka stwierdza bowiem, że przedłożone badania są w pełni nowatorskie. Pomimo tego, Autorka podjęła trudną i w pełni udaną próbę przedyskutowania uzyskanych wyników badań. Moim zdaniem, niepotrzebnie jednak powieliła w niej informacje zawarte we wcześniejszych rozdziałach pracy. Doktorantka przedyskutowała każdy aspekt zaprezentowanej pracy, starając się w miarę możliwości odnosić wyniki swoich badań do badań podobnych, lecz często odmiennych w założeniach.

Autorka zamieściła także na końcu dyskusji ograniczenia pracy oraz zaprezentowała pomysł na kontynuację badań. Jest to bardzo cenne.

Uzyskane wyniki wraz z adekwatną analizą statystyczną pozwoliły na realizację celu badań, weryfikację hipotez oraz wyciągnięcie odpowiednich wniosków. Według mnie, z uwagi na lepszy ich odbiór, powinny być przedstawione w punktach odpowiadających postawionym celom badawczym. Sposób ich przedstawienia nie wpływa jednak na poprawność wyciągniętych wniosków.

Postawione przez Autorkę wnioski:

1. sześciomiesięczne zastosowanie diety typu śródziemnomorskiego z kontrolowaną podażą kwasów tłuszczowych z rodziny omega-3 wpływa na badane parametry profilu lipidowego u kobiet z FH oraz u zdrowych kobiet z podwyższonym stężeniem LDL-CH,
2. pacjentki z hipercholesterolemią rodzinną prezentowały wyższą świadomość żywieniową w porównaniu do grupy kontrolnej,
3. nawyki żywieniowe pacjentek z hipercholesterolemią rodzinną były lepsze od nawyków pacjentek grupy kontrolnej,
4. jest możliwe wprowadzenie diety typu śródziemnomorskiego w warunkach polskich,

wskazują na wysoki potencjał aplikacyjny pracy. Powinny być wykorzystywane przez lekarzy i dietetyków podczas wizyt i służyć uświadamianiu i podnoszeniu stanu zdrowia pacjentów, szczególnie tych narażonych na choroby z grupy sercowo-naczyniowych.

We wnioskach Autorka powinna jednak sprecyzować jak 6-cio miesięczne zastosowanie diety typu śródziemnomorskiego z kontrolowaną podażą kwasów tłuszczowych z rodziny omega-3 wpływa na badane parametry profilu lipidowego – korzystnie, czy niekorzystnie? Rozwinęła ten wątek w dyskusji, stąd przyjmuję to za oczywiste przeoczenie.

Pozostałe, drobne uwagi wynikające z roli Recenzenta:

1. Brak informacji na temat źródeł finansowania pracy oraz dorobku doktorantki.
2. Drobne błędy literowe oraz stylistyczne, np. „Wstęp” rozpoczyna się od strony 5, a nie 3, jak zamieszczono w spisie treści.
3. Skrót, pomimo zawarcia ich w spisie, dla lepszego odbioru pracy powinny być zamieszczane także w tekście w pierwszym miejscu ich zastosowania.
4. Autorka stosuje stwierdzenie poziom cholesterolu, prawidłowo powinno być stężenie cholesterolu (np. str. 7).

5. Rozbieżności w sposobie przedstawienia piśmiennictwa (przykładowo formatowanie pozycji 80, czy 91 odbiega od pozostałych).

Reasumując, przedstawione uwagi i sugestie w żaden sposób nie zmieniają mojej bardzo wysokiej oceny dysertacji, która została dobrze zaplanowana i zrealizowana.

Praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a Doktorantka prezentuje wystarczającą wiedzę w zakresie swojej dyscypliny, jak również jest zdolna do samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Przedstawiona praca w pełni odpowiada kryteriom stawianym przed kandydatami do stopnia doktora, spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Stąd, mam zaszczyt zwrócić się do Wysokiej Rady Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie mgr. Anny Wojdy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na dojrzałość naukową Autorki, o której świadczy ogrom pracy włożonej w zaplanowanie i realizację dysertacji oraz realny potencjał aplikacyjny zaprezentowanych wyników, jak również dorobek naukowy autorki (5 publikacji, wśród których w 2 jest 1-szym autorem 110 punktów ministerialnych oraz 7 doniesień konferencyjnych wśród których jest również dwukrotnie pierwszym autorem; dane bibliometryczne ze strony GUM) zwracam się do Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej.

Z poważaniem