



Dr hab. n. med. Edyta Adamska-Patruno

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii  
i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim  
Pracownia Nutriomiki Centrum Badań Klinicznych  
Ośrodek Wsparcia Badań Klinicznych  
15-274 Białystok, ul. Waszyngtona 17  
Tel. 85 686 53 96  
e-mail: edyta.adamska-patruno@umb.edu.pl

### Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Ewy Bulczak

*pt. „Ocena efektywności spersonalizowanych porad żywieniowych bazujących na analizie genotypu u zdrowych dorosłych”.*

Promotor: Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Agata Chmurzyńska

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska obejmuje prace badawcze, które zostały przeprowadzone w okresie wrzesień 2019-listopad 2021 na terenie województwa wielkopolskiego. Do badania włączono populację kobiet i mężczyzn w wieku 18-60 lat, u których przeprowadzono dwie 20-tygodniowe interwencje żywieniowe, podzielone na dwa projekty. W badanej populacji wykonano oznaczenia wybranych polimorfizmów genetycznych w obrębie dwóch genów: w Projekcie 1 – gen *CYP1A2* oraz gen *TAS2R38* w Projekcie 2. Zebrane

i przedstawione piśmiennictwo wskazuje, iż badany SNP rs762551 genu *CYP1A2* wykazuje związek z wolnym metabolizowaniem kofeiny, natomiast gen *TAS2R38* z odczuwaniem smaku gorzkiego.

Temat podjęty w przedstawionej rozprawie doktorskiej dotyczy spersonalizowanego żywienia, uwzględniającego uwarunkowania genetyczne. Jest to temat oryginalny, bardzo innowacyjny i interesujący, który w przyszłości z pewnością odgrywać będzie coraz większą rolę w profilaktyce i leczeniu wielu jednostek chorobowych, zwłaszcza chorób dietozależnych. Zaawansowane narzędzia i postęp nauki mogą znaleźć zastosowanie praktyczne również w formie badań przesiewowych, które pozwolą na identyfikację i wdrożenie spersonalizowanego postępowania dietetycznego w ramach spersonalizowanej profilaktyki, prewencji i leczenia.

Osoby włączone do badań podzielone zostały na grupy badane i grupy kontrolne. Uczestnicy włączeni do grup badanych otrzymywali porady żywieniowe wraz z informacją o posiadanym genotypie i konieczności zmniejszenia spożycia kofeiny (Projekt 1) i zwiększenia spożycia warzyw (Projekt 2) z uwagi na nosicielstwo badanych genotypów/haplotypów, natomiast osoby z grup kontrolnych otrzymywały zalecenia ograniczenia spożycia kofeiny lub zwiększenia spożycia warzyw, lecz bez informacji o wynikach badań genetycznych.

Do Projektu 1 włączeni zostali uczestnicy, u których wyjściowe spożycie kofeiny wynosiło >200 mg/doba i stwierdzono u nich przynajmniej jeden allel C w rs762551 w obrębie genu *CYP1A2*. Osoby włączone do grupy badanej otrzymały informację: „(...) osoby z Pana/Pani genotypem mają wyższe ryzyko wystąpienia zawału mięśnia sercowego. Żeby obniżyć to ryzyko powinna Pani/Pan zmniejszyć spożycie do maksymalnie 100 mg kofeiny na dzień tj. do jednej kawy lub jej odpowiedników z innych źródeł”. Natomiast osoby z grupy kontrolnej otrzymały informację „Po analizie Pani/Pana wyników zalecane jest zmniejszenie spożycia do maksymalnie 100 mg kofeiny na dzień, tj. do jednej kawy lub jej odpowiedników z innych źródeł”, bez informacji o zidentyfikowanym genotypie i ryzyku zdrowotnym.

Wszyscy uczestnicy biorący udział w Projekcie 2 otrzymali zalecenie zwiększenia spożycia warzyw. Osoby włączone do grupy badanej i kontrolnej 1 (u których stwierdzono haplotypy w obrębie genu *TAS2R38* związane ze zwiększoną wrażliwością na smak gorzki) otrzymali informację, iż warzywa krzyżowe mogą odczuwać jako gorzkie i wskazówki jakimi innymi

warzywami mogą zostać zastąpione warzywa krzyżowe. Natomiast uczestnicy, u których stwierdzono haplotyp niewykazujący związku ze zwiększonym odczuwaniem smaku gorzkiego włączeni zostali do grupy kontrolnej 2 i otrzymali ogólne zalecenie zwiększenia spożycia warzyw, nie otrzymując informacji o wynikach genotypowania.

W przeprowadzonych badaniach analizom poddane zostały zmiany w sposobie żywienia wprowadzone przez uczestników badań, oraz zmiany parametrów antropometrycznych i wartości wybranych parametrów biochemicznych krwi.

Powyższe badania przeprowadzone zostały przez Panią mgr Ewę Bulczak, pod opieką Pani prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Agaty Chmurzyńskiej. Doktorantka ukończyła studia drugiego stopnia, na kierunku Dietetyka, na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu uzyskując tytuł magistra w roku 2018. Doktorantka jest współautorem 4 artykułów naukowych, 4 artykułów popularno-naukowych i 4 doniesień konferencyjnych. Pani mgr Ewa Bulczak uczestniczyła w przygotowaniu wniosków projektów naukowych oraz poszerzała swoją wiedzę w ramach II Letniej Szkoły Nutrigenomiki, na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, w dn. 2-3 września 2017r.

Rozprawa doktorska Pani mgr Ewy Bulczak składa się z części literaturowej, w której bardzo obszernie i szczegółowo przedstawiony został poruszony temat badawczy. Ponadto rozprawa zawiera hipotezy, opis metodyki, opis otrzymanych wyników oraz ich omówienie w formie dyskusji. Doktorantka powołała się również na informacje zawarte w licznych publikacjach innych autorów.

Cel przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej Doktorantka sformułowała jako „określenie wpływu personalizowanej interwencji żywieniowej na zmianę spożycia wybranych składników pokarmowych i/lub produktów spożywczych i wybrane wskaźniki stanu zdrowia”. W mojej opinii główny cel powinien podkreślać, iż była to analiza czy informowanie o posiadanym genotypie i związanym z tym ryzykiem zdrowotnym wpływa na zastosowanie i wdrożenie zaleceń dietetycznych w stopniu większym niż porada żywieniowa bez podawania informacji o nosicielstwie badanych genotypów i związanym z nimi ryzyku zdrowotnym. Niemniej jednak sposób w jaki został zredagowany cel główny nie wpływa na wartość pracy,

gdyż w dalszej części rozprawy doktorskiej zostało to doprecyzowane, omówione i przedyskutowane w sposób prawidłowy.

Do oceny wyników przeprowadzonych interwencji wykorzystanych zostało kilka narzędzi oceniających spożycie zarówno codzienne jak również zwyczajowe. Wykorzystana też została aplikacja on-line do oceny spożycia kofeiny. Zastosowane narzędzie FFQ do oceny spożycia kofeiny były bardzo szczegółowo i rzetelnie dopracowane. U uczestników badań przeprowadzone zostały formularze online. Na kolejnym spotkaniu przeprowadzone zostało obowiązkowe spotkanie z dietetykiem, na którym omówione zostały formularze wypełnione on-line aby wykluczyć błędy w ich wypełnianiu, i omówione zostały zalecenia dietetyczne. Pozostałe zastosowane metody dotyczące oznaczeń laboratoryjnych oraz pomiarów zostały prawidłowo dobrane i szczegółowo opisane.

Spośród 609 osób, które zgłosiły chęć udziału w badaniu, badania ukończyły 94 osoby w Projekcie 1 i 174 osoby w Projekcie 2. Na duży drop-out uczestników niewątpliwie miała wpływ ówczesna sytuacja epidemiczna, co zostało podane przez Doktorantkę jako jeden z głównych powodów rezygnacji z udziału w badaniu. W podanej metodyce jest informacja, iż uczestnicy przydzielani byli do grup badanych i kontrolnych losowo (randomizacja). Niemniej jednak w Projekcie 2 uczestnicy zostali przydzieleni na podstawie nosicielstwa konkretnych haplotypów wykazujących związek ze zwiększoną wrażliwością na smak gorzki (przynajmniej jednego haplotypu PAV) do grupy badanej i kontrolnej 1 (losowo), podczas gdy nosiciele haplotypu nie wykazującego związku z odczuwaniem smaku gorzkiego (AVI/AVI) włączono do grupy kontrolnej 2. Z powyższego wynika, iż przydzielenie do grup nie było do końca procesem losowym/randomizowanym. Z uwagi na powyższe przeprowadzona interwencja była różna także w zależności od nosicielstwa danego haplotypu, gdyż jedynie osoby niewrażliwe na smak gorzki (haplotyp AVI/AVI) otrzymały zalecenia żywieniowe bez informacji o wynikach badania genetycznego, co powinno zostać poruszone w dyskusji. Myślę, że warto wziąć ten fakt pod uwagę planując przyszłe analizy. Z jednej strony taki układ badania może być źródłem innych ciekawych wyników/wniosków, i może warto przeprowadzić dodatkowe analizy, jednak planując przyszłe badania naukowe mające na celu analizę zależności pomiędzy wynikami interwencji a czynnikiem genetycznym, moim zdaniem należałoby przeprowadzić różne interwencje w takich samych grupach, lub takie same interwencje w różnych grupach.

Podsumowując, konstrukcję rozprawy doktorskiej oceniam jako prawidłową. Cele zostały sformułowane prawidłowo. Część badawcza została opisana prawidłowo, niemniej jednak czytając przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską nasuwa się kilka pytań, które przedstawiam poniżej:

1. Uczestnicy badań otrzymali informację, aby poza otrzymanymi zaleceniami nie zmieniać innych aspektów sposobu żywienia i stylu życia- czy to było weryfikowane podczas badania? Czy wyniki uzyskane na podstawie przeprowadzonych kwestionariuszy IPAQ różniły przed i w trakcie prowadzonych interwencji?
2. Jakie urazy stanowiły kryterium wykluczenia z udziału w Projekcie 2, i z jakiego powodu?
3. W rozprawie, przy wynikach Projektu 1 oceniającego spożycie kofeiny u osób wolno metabolizujących kofeinę i z wysokim ryzykiem zdrowotnym, podane są wyniki pomiarów ciśnienia tętniczego przed interwencją (Tabela 13), natomiast brakuje wyników pomiaru ciśnienia tętniczego po interwencji dietetycznej. Czy ciśnienie tętnicze było mierzone, i jeśli tak to jakie były otrzymane wyniki? Czy pod wpływem interwencji i istotnego zmniejszenia spożycia kofeiny przez osoby wolno ją metabolizujące wartości ciśnienia (i tym samym ryzyko zdrowotne) uległy obniżeniu?
4. Jaka aplikacja on-line została wykorzystana do monitorowania spożycia kofeiny? Czy to były formularze w formie elektronicznej, czy może aplikacja stworzona na potrzeby projektu/ogólnodostępna?
5. Pierwsze ankiety były wypełnione przez uczestników w wersji on-line, przed szkoleniem ze sposobu ich wypełniania, natomiast kolejne kwestionariusze dotyczące żywienia zebrane były po szkoleniu, na którym omówione zostały formularze wypełnione online, aby wykluczyć błędy w ich wypełnianiu. Czy taki model mógł wpłynąć na ostateczne wyniki przeprowadzonych interwencji? Czy możliwe jest, aby ewentualne błędy w wypełnianiu ankiet przed rozpoczęciem interwencji były na tyle istotne, że mogły warunkować ostateczne wyniki przeprowadzonych interwencji?
6. Jednym z wykorzystanych narzędzi był 3-dniowy dzienniczek żywieniowy, który został wykorzystany do uzyskania informacji o wartości energetycznej, wykorzystanej przy analizie spożycia warzyw i owoców w zależności od haplotypów w obrębie genu *TAS2R38*. Wyników przedstawiających wartość energetyczną nie potrafiłam odnaleźć

w pracy, a mogą mieć istotne znaczenie zwłaszcza z uwagi na obserwowaną istotną redukcję zawartości tkanki tłuszczowej i obwodu pasa. Czy wartości energetyczne różniły się pomiędzy grupami lub pod wpływem przeprowadzonych interwencji?

7. Średnia masa ciała w grupie badanej Projektu 1 (Tabela 10) przed interwencją wynosiła 48,92 kg (10,25), natomiast po interwencji 70,74 kg (15,6). FFM w tej samej grupie przed interwencją wynosiła 71,18 kg (15,36), natomiast po interwencji 48,10 kg (15,60). Czy podane wyniki są prawidłowe?
8. W Projekcie 2 uczestnicy grupy badanej otrzymali informację, iż stwierdzono u nich haplotyp wykazujący związek z większą wrażliwością na smak gorzki oraz poradę w jaki sposób mogą być zastąpione warzywa krzyżowe (które mogą odczuwać jako gorzkie) warzywami korzeniowymi; natomiast w wyniku przeprowadzonej interwencji wzrosło spożycie warzyw kapustnych, które należą właśnie do warzyw krzyżowych. Jest to obserwacja niespodziewana i warta dyskusji. Co zdaniem Doktorantki mogło być przyczyną otrzymania takiego wyniku?

## Wnioski

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego i dotyczy innowacyjnego i ciekawego obszaru badawczego. Doktorantka wykazała się wiedzą w zakresie podjętego tematu i umiejętnościami prowadzenia pracy naukowej. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia wymagania z art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U z 2022r. poz. 574 z późn. zm.). Wnoszę do Senatu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr Ewy Bulczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku

**ADIUNKT**

Ośrodek Wsparcia Badań Klinicznych UMB

*Edyta Adamska-Patrino*  
dr hab. n. med. Edyta Adamska-Patrino

Białystok, dn. 21 czerwca 2023r.