

**Ocena**  
**Rozprawy doktorskiej mgr Ewy Bulczak**  
**Doktorantki Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu**

Temat rozprawy:

**Ocena efektywności spersonalizowanych porad żywieniowych bazujących na analizie genotypu u zdrowych dorosłych**

Praca wykonana w Katedrze Żywienia Człowieka i Dietetyki Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu, pod kierunkiem prof. dr hab. Agaty Chmurzyńskiej

Prawidłowe żywienie ma kluczowe znaczenie dla rozwoju i działania organizmu oraz zapobiegania licznym chorobom. Personalizacja żywienia obejmuje dostosowanie zasad żywienia opracowanych dla określonych grup populacyjnych do potrzeb i preferencji konkretnej osoby, biorąc pod uwagę unikalne cechy, takie jak np. indywidualny styl życia, status społeczno-ekonomiczny historię zdrowia, czy profil genetyczny. Personalizacja żywienia dąży do opracowywania zindywidualizowanych, praktycznych zaleceń dietetycznych dotyczących tego, co, kiedy, dlaczego i jak jeść, aby zoptymalizować zdrowie i jakość życia. Spersonalizowane zalecenia żywieniowe biorą pod uwagę m.in. wyniki testów laboratoryjnych: testów biochemicznych, genetycznych czy omicznych. Wyniki tych testów pozwalają bowiem oceniać, w jaki sposób żywność i składniki odżywcze wchodzi w interakcje z indywidualnymi cechami biologicznymi danej osoby i jakie mogą być efekty tych interakcji.

Głównym ograniczeniem stosowania spersonalizowanego żywienia w praktyce jest brak dostatecznych dowodów naukowych o związkach np. między naszymi wzorcami żywieniowymi a naszymi genami i sposobem, w jaki te dwa czynniki oddziałują na nasze inne indywidualne zachowania a w efekcie nasz sposób żywienia i nasze zdrowie. Dlatego konieczne jest prowadzenie badań ukazujących efektywność określonych działań w zakresie personalizacji żywienia. Przedstawiona do recenzji praca wpisuje się w ten nurt badań.

Praca została przygotowana w formie monografii liczącej 150 stron. Sposób przygotowania a w efekcie kształt monografii jest typowy dla rozpraw doktorskich. Praca rozpoczyna się Wstępem, który w oparciu o starannie dobrane piśmiennictwo omawia kluczowe zagadnienia niezbędne dla uzasadnienia założeń i celu pracy. Hipotezy badawcze oraz cel pracy i sposób jego osiągnięcia zostały precyzyjnie określone. Dokonano opisu części doświadczalnej oraz przedstawiono szczegółową i wielostronną analizę uzyskanych wyników. Uzyskane dane poddano dyskusji w kontekście danych dostępnych w piśmiennictwie oraz przedstawiono wnioski wynikające z przeprowadzonych badań i analizy ich wyników. Praca zawiera również spis wykorzystanego piśmiennictwa, spis tabel i rycin, spis użytych skrótów oraz streszczenie w języku polskim i angielskim.

Podstawą realizacji założonych celów i sprawdzenia przedłożonych hipotez są dwa badania obejmujące interwencje żywieniowe, których celem było określenie efektywności personalizacji zaleceń opartych na informacji dotyczącej nosicielstwa wybranych wariantów genów. Celem pierwszego badania było uzyskanie zmniejszenia spożycia kofeiny przede wszystkim u nosicieli wariantów w obrębie genu *CYP1A2* (polimorfizm rs762551, obecność allele C w układzie homozygotycznym lub heterozygotycznym), kodujących enzym zmniejszający szybkość metabolizmu kofeiny. Celem drugiego badania było uzyskanie zwiększenia spożycia warzyw i owoców zwłaszcza w grupie osób wrażliwych na smak gorzki, u których wrażliwość ta jest związana z nosicielstwem odpowiednich wariantów w obrębie genu *TAS2R38* (polimorfizmy rs713598, rs1726866 oraz rs10246939, homozygoty lub heterozygoty w zakresie haplotypu PAV).

W projekcie pierwszym brały udział zdrowe osoby w wieku 18-60 lat, nosiciele allele C rs762551, spożywający co najmniej 200 mg kofeiny dziennie z różnych źródeł. Uczestnicy badania byli losowo przydzielani do grupy badanej lub kontrolnej. Wszyscy uczestniczący w badaniu otrzymywali zalecenia zmniejszenia spożyci kofeiny, przy czym grupa badana uzyskiwała dodatkowo informację o nosicielstwie allele C, który sprawia, iż wolniej metabolizują oni kofeiną, co zwiększa ryzyko działań niepożądanych związanych ze wzrostem ryzyka zawału mięśnia sercowego. Ostateczne wyniki poddawane analizie uzyskano w grupie liczącej 94 osoby. Oceny spożycia kofeiny dokonywano w oparciu o zwalidowany autorski kwestionariusz, a ponadto w oparciu o aplikację na urządzenia mobilne pozwalającą na bieżące

notowanie spożycia kofeiny (cztery razy dziennie w określonym okresie prowadzenia badania).

W projekcie drugim brali udział zdrowi ochotnicy w wieku 18-64 lata, nosiciele różnych haplotypów genu *TAS2R38*. Nosiciele haplotypu PAV zwiększającego wrażliwość na smak gorzki byli losowo przydzielani do grupy badanej lub kontrolnej I, natomiast uczestnicy będący homozygotami AVI niewrażliwymi na gorzki smak stanowili grupę kontrolną II. Wszyscy uczestnicy badania uzyskiwali poradę żywieniową, której celem był wzrost spożycia warzyw i owoców. Osoby zakwalifikowane do grupy badanej byli informowani o genetycznie uwarunkowanej wrażliwości na smak gorzki, co może wpływać na spożycie określonych warzyw i owoców oraz uzyskiwali informację jak mogą sobie z tym radzić i jakie warzywa/owoce wybierać. Ostateczne wyniki uzyskane w grupie 174 osób, z których grupę kontrolną II stanowiło 51 uczestników niewrażliwych na gorzki smak, a grupę badaną 54 osoby. Dokonano oceny spożycia warzyw i owoców w oparciu o kwestionariusz częstotliwości spożycia określonych produktów oraz w oparciu o kwestionariusz zmodyfikowany o produkty gorzkie tzn. kawę i cytrusy. Ponadto uczestnicy dwukrotnie notowali spożycie żywności w oparciu zapis 3-dniowego spożycia żywności obejmujący dwa dni robocze i jeden dzień weekendowy.

U uczestników badań oceniano również szereg parametrów biochemicznych oraz antropometrycznych.

Analiza uzyskanych wyników wykazała, iż porada dietetyczna dotycząca obniżenia spożycia kofeiny była skuteczna i zaowocowała obniżeniem poziomu spożycia kofeiny o ok. 40% zarówno w grupie badanej jak i grupie kontrolnej. Oznacza to, iż dodatkowa informacja dotycząca nosicielstwa niekorzystnego wariantu genu kodującego enzym o kluczowym znaczeniu w metabolizmie kofeiny, co skutkuje obniżonym metabolizmem kofeiny, jej dłuższym przebywaniem w krążeniu, a to może zwiększać ryzyko zawału mięśnia sercowego, nie miała istotnego wpływu na poziom obniżenia spożycia kofeiny. W obu grupach istotnie spadło spożycie kawy, herbaty, czekolady a ponadto uczestnicy deklarowali zaprzestanie spożywania suplementów zawierających kofeinę. Warto również zauważyć, iż w grupie badanej wielokrotnie wzrosło spożycie yerba-mate, natomiast w grupie kontrolnej odnotowano ok.90% spadek spożycia tego produktu. Trudno jednak określić przyczynę tej zmiany.

Wyniki badania drugiego pokazały, iż efekt udzielonej porady dietetycznej, której celem było zachęcenie uczestników do wzrostu spożycia warzyw i owoców był porównywalny we wszystkich grupach i informacja o genetycznej skłonności do odczuwania smaku gorzkiego nie miała istotnego znaczenia i nie wpłynęła na obserwowany poziom spożycia. Natomiast przedstawiane w tabeli 18 zmiany spożycia określonych produktów w badanych grupach po interwencji wydają się być przypadkowe. Podobnie trudno jest wytłumaczyć zmiany w obrębie określonych parametrów antropometrycznych czy biochemicznych zaprezentowane w tabelach 21 i 24.

Podjęte badania spełniły swoje cele, gdyż dostarczyły istotnych danych w zakresie możliwości i celowości wykorzystywania określonych markerów genetycznych w personalizacji żywienia. Dostępność badań genetycznych jest stosunkowo wysoka, ale należy podkreślić, iż są to badania wykonywane komercyjnie i głównie w formule direct-to-consumer-test. Ta formuła badań jest krytykowana, gdyż kluczowe znaczenie ma interpretacja wyników testu, która powinna być dokonywana przez profesjonalistę. W obszarze tzw. badań nutrigenomicznych interpretacja wyników badań genetycznych generalnie nastrocza trudności, gdyż nie dysponujemy dostatecznymi dowodami naukowymi pozwalającymi na jednoznaczną interpretację potencjalnych efektów metabolicznych i zdrowotnych. Przykładem roli dowodów naukowych w tworzeniu rekomendacji dla działań praktycznych jest zmiana podejścia do roli badań genetycznych w ocenie nietolerancji glutenu i rozwoju celiakii. Początkowo badania genetyczne były bardzo często postrzegane jako czynnik o kluczowym znaczeniu a obecnie interpretacja ta uległa gruntownej zmianie. Aktualne, oparte na dowodach naukowych rekomendacje dotyczące diagnostyki celiakii i miejsca badań genetycznych w tym postępowaniu są nie tylko istotne dla lekarzy ale także dietetyków, do których zgłaszają się przede wszystkim dorośli pacjenci z problemami sugerującymi występowanie nietolerancji pokarmowych. Liczne trudności interpretacyjne związane są również z wykorzystaniem testów genetycznych w ocenie ryzyka. Dlatego też wykorzystywanie badań genetycznych w personalizacji żywienia jest problemem złożonym, gdyż wymaga oparcia się na dowodach naukowych a tych zazwyczaj brakuje. Nic więc dziwnego, że możliwości wykorzystywania badań genetycznych w personalizacji żywienia są ograniczone. Wyniki zawarte w prezentowanej pracy są również na to dowodem. W przypadku zaleceń ograniczenia spożycia kofeiny istotniejsze znaczenie miała informacja odnosząca się do ogólnych efektów

zdrowotnych i zagrożeń związanych z wysokim dowozem kofeiny z różnych źródeł. W jej świetle informacja o genotypie, który wpływa na metabolizm kofeiny, ale nie jest kluczowym determinantem jej efektów zdrowotnych, nie miała już istotnego znaczenia. Podobnie w przypadku wrażliwości na odczuwanie smaku gorzkiego. Nosicielstwo wariantów genetycznych zwiększających tę wrażliwość nie było istotnym czynnikiem terminującym spożywanie produktów o takim smaku. Wskazuje to, iż inne czynniki np. związane ze sposobem przygotowywania tych produktów do spożycia, a być może także akceptacja tegoż smaku, odgrywały istotną rolę i determinowały wybory uczestników badania. Uzyskane wyniki wskazują więc, iż personalizacja zaleceń dietetycznych jest działaniem złożonym i powinna opierać się na analizie wielu elementów a czynniki genetyczne mogą być jednym z nich, ale zakres ich wykorzystania zależy od siły dostępnych dowodów naukowych wskazujących na siłę ich potencjalnego oddziaływania. Brak silnych dowodów naukowych leży u podstaw braku rekomendacji co do ich stosowania w praktyce dietetycznej w personalizacji zaleceń. W personalizacji zaleceń żywieniowych istotne znaczenie mają i prawdopodobnie będą miły te czynniki genetyczne, które w istotny sposób wpływają na zmianę zaleceń dietetycznych i zmianę zaleceń dotyczących konstruowania codziennych posiłków. Przykładem takiego czynnika jest polimorfizm *MTHFR*. Wysoka częstość allele T w populacjach europejskich sprawiła, iż zwiększono referencyjny zakres spożycia folianów (DRV for folate, EFSA NDA Panel). Ponadto odpowiednia konstrukcja codziennych posiłków i występowanie produktów dostarczających foliany w różnych posiłkach spożywanych w ciągu dnia, mają istotne znaczenie dla zapewnienia dostępności grup metylowych zwłaszcza w przypadku homozygot TT. Mam nadzieję, że podczas obrony recenzowanej rozprawy doktorskiej będziemy mieli możliwość podjęcia dyskusji na temat personalizacji żywienia – możliwości i ograniczeń.

W prezentowanej pracy oceniano również przydatność aplikacji na urządzenia mobilne do rejestracji bieżącego spożycia produktów zawierających kofeinę. Zakres wykorzystania tej i podobnych aplikacji zależy bez wątpienia od wielu czynników. Przeprowadzone badania wskazują na ograniczenia związane ze stosowaniem tego typu aplikacji i mają istotne znaczenia zarówno dla konstruktorów tego typu aplikacji jak i użytkowników chcących je wykorzystywać w praktyce do oceny spożycia określonych produktów.

Należy podkreślić, iż praca została starannie przygotowana pod względem edytorskim, jednak Autorka nie ustrzegła się pewnych błędów, m.in. oceniamy częstość alleli, genotypów czy holotypów a nie frekwencję (tabela 6, str. 81). Trudno również uznać za poprawną identyfikację modeli dziedziczenia zaprezentowaną w tabelach 14 i 15. Zastosowano tu różne modele analizy danych ze względu na obecność określonych haplotypów. Ponadto w tabeli 15 liczba przypadków analizowanych w modelu I jest inna niż w modelu II, co dla czytelnika jest trudne do zrozumienia i sugeruje o błędach w oznaczeniu rzeczywistej liczebności grup.

Podsumowując, należy podkreślić trafność podjętej tematyki badawczej i znaczenie uzyskanych wyników nie tylko dla celów poznawczych, ale także dla stymulowania dalszych badań w celu zwiększenia efektywności działań podejmowanych w praktyce klinicznej w zakresie personalizacji żywienia. Towarzyszy temu jasne wyznaczenia celu badania i drogi prowadzącej do jego realizacji, trafność doboru i umiejętne wykorzystania wybranych metod i narzędzi badawczych. Analiza uzyskanych wyników wskazuje, iż przedstawiona do recenzji praca dostarcza nowych danych na temat możliwości i celowości wykorzystania określonych markerów genetycznych w personalizacji zaleceń dietetycznych.

Oceniana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w ustawie „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”

Wobec powyższego przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu wnioski o dopuszczenie pani mgr Ewy Bulczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 20.06.2023



Prof. dr hab. Grażyna Nowicka