Prof. dr hab. n. med. Lucyna Ostrowska
Zakład Dietetyki i Żywienia Klinicznego
Wydział Nauk o Zdrowiu
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
15-054 Białystok
ul. Mieszka I-go 4B
tel./fax 85 732 82 44

Białystok, dn. 20.10.2021

Recenzja pracy doktorskiej
mgr. Ewy Zygmanowskiej pt. „Żywieniowe zastosowanie β – escyny i ekstraktu z owoców aronii u osób z nadmierną masą ciała"

Otyłość jest chorobą przewlekłą bez tendencji do samoistnego ustępowania, ale za to z tendencją do częstych nawrotów, które dawniej nazywano efektem jo-jo. Nadwaga jest stanem przedotyłościowym, w którym skuteczna terapia (w tym żywieniowa) może uchronić przed wystąpieniem choroby otyłościowej i jej następstw. Częstość występowania nadmiernej masy ciała dotyczy obecnie trzech z pięciu dorosłych Polaków, a chorzy na otyłość stanowią około 30% całej populacji. Pandemia otyłości zarówno w Polsce jak i na świecie zwiększyła się wraz z trwaniem pandemii Covid-19, do czego przyczyniło się szereg czynników patofizjologicznych związanych z otyłością (metabolicznych, zapalnych, mechanicznych) jak i czynników środowiskowych (siedzący tryb życia, praca zdalna, ograniczenie możliwości poruszania się w czasie „lock down", łatwy dostęp do żywności i stres towarzyszący pandemii COVID-19). Otyłość jest chorobą, ale też wiąże się z występowaniem licznych powikłań metabolicznych, mechanicznych i psychicznych. Często prowadzi do insulinooporności, zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz chorób

towarzyszących, m.in. nadciśnienia tętniczego, cukrzycy typu 2, dny moczanowej, kamicy żółciowej, miażdżycy i jej powikłań, oraz niektórych nowotworów. Przyczyn otyłości możemy szukać wśród czynników środowiskowych, psychologicznych, metabolicznych i genetycznych. Coraz częściej, w patogenezie nadmiernego gromadzenia tkanki tłuszczowej w ustroju i jej stanu zapalnego wymienia się udział mikrobiomu gospodarza. Wieloprzyczynowość tej choroby sprawia, że jest ona przez to dużo trudniejsza do leczenia. Nie ulega wątpliwości, że leczenie otyłości składa się z leczenia niefarmakologicznego (zastosowania indywidualnie dobranej diety redukcyjnej oraz aktywności fizycznej pozazawodowej, terapii behawioralnej polegającej na prozdrowotnej zmianie stylu życia i żywienia) oraz leczenia farmakologicznego. U osób z otyłością olbrzymią (otyłością III stopnia lub II stopnia i chorobami towarzyszącymi) zaleca się w standardach polskich i międzynarodowych leczenie bariatryczne i dalszą kompleksową terapię otyłości (z udziałem zespołów terapeutycznych, w których skład wchodzą: lekarz, dietetyk, psycholog i fizykoterapeuta). Lata doświadczeń w leczeniu tej choroby pokazały, że praca z chorym z otyłością prowadzona jednoosobowo przez lekarza lub dietetyka nie przynosiła oczekiwanych efektów, dlatego standardy Polskiego Towarzystwa Leczenia Otyłości oraz Polskiego Towarzystwa Badań nad Otyłością rekomendują (podobnie jak najnowsze kanadyjskie i europejskie wytyczne leczenia otyłości) – leczenie choroby otyłościowej przez zespół terapeutyczny (na pewno nie mówi się w tym przypadku o odchudzaniu, a o leczeniu choroby przewlekłej!!). Ponieważ skuteczność terapii dietetycznej i stosowanych metod niefarmakologicznych (zwiększona aktywność ruchowa, modyfikacja zachowań żywieniowych) w dłuższej perspektywie czasowej jest niesatysfakcjonująca (w obserwacji dwuletniej skuteczność ocenia się na 3-5%), wskazane jest zastosowanie wsparcia farmakologicznego pod kontrolą lekarza. W procesie długoterminowego leczenia choroby przewlekłej, jaką jest otyłość, stosowanie obecnie znanych suplementów diety jest oceniane na poziomie skuteczności placebo. Niemniej jednak, wskazane jest poszukiwanie bezpiecznej i skutecznej terapii redukcji masy ciała, a przez to poszukiwanie substancji dodanych do żywności (np. jako suplement w celu zmniejszenia łaknienia czy apetytu). Stąd cel pracy przedstawionej mi do recenzji jest jak najbardziej pożądany i dotyczy oceny skuteczności preparatu zawierającego β-escynę i ekstrakt z owoców aronii w redukcji masy ciała u osób z nadwagą i otyłością.

Praca ma typowy układ pracy doktorskiej, składa się z sześciu rozdziałów (Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski), piśmiennictwa, streszczenia w języku

polskim i angielskim, wykazu najczęściej stosowanych skrótów, aneksu pracy (zawierającego Ankietę Apetytu Rady ds. Żywienia oraz skład i raport Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym o numerze KB/191/2018). Praca przedstawiona jest na 86 stronach, wyniki przedstawiono w 3 tabelach i zilustrowano 15 rycinami (w tekście pracy nie ma wykazu tabel i rycin).

We wstępie Doktorantka przedstawia podstawy teoretyczne przeprowadzonych badań. Dotyczą one charakterystyki choroby, jaką jest otyłość, jej epidemiologię, etiopatogenezę, i powikłania towarzyszące otyłości. Nawiązuje również (zresztą bardzo słusznie) do związku choroby otyłościowej z obecną pandemią COVID-19, wyjaśnia możliwe związki i patomechanizmy, co uważam za największą wartość tej pracy. Następnie mgr dietetyki Ewa Zygmanowska analizuje leki stosowane w terapii wspomagającej leczenie otyłości, ale niezgodnie ze współczesnymi standardami, proces leczenia otyłości nazywa „odchudzaniem" lub „terapią odchudzającą" (m.in. str. 20-23), bądź też „kuracją odchudzającą". Pragnę nadmienić, że odchudzanie to proces krótkotrwały dotyczący jedynie obiecywanej szybkiej redukcji masy ciała. Celem leczenia chorego na otyłość jest leczenie wieloletnie, zwykle bezterminowe, polegające nie tylko na redukcji masy ciała (a w rzeczywistości redukcji tkanki tłuszczowej), ale również na zmniejszaniu czynników ryzyka chorób towarzyszących lub poprawie stanu klinicznego chorób współistniejących. Doktorantka odnosi się również do miejsca suplementów diety w procesie „odchudzania" i słusznie zauważa, że mają one wyłącznie „sugerowane działanie odchudzające", gdyż jedynie piperyna uzyskała pozytywną opinię Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności EFSA, jako substancja sprzyjająca zmniejszaniu masy ciała poprzez zwiększenie biodostępności kwasu hydroksycytrynowego.

Bardzo ważnym podrozdziałem, uzasadniającym postawienie hipotezy badawczej (celu pracy) jest charakterystyka użytych w pracy składników β-escyny i ekstraktów z owoców aronii. Mgr Ewa Zygmanowska przytacza szereg prac dotyczących zastosowania β-escyny jako preparatu o działaniu przeciwzapalnym, przeciwobrzękowym, działającym ochronnie na śródbłonek naczyniowy. We wstępie, Doktorantka dowodzi, że β-escyna posiada właściwości przeciwutleniające, ale nie wykazuje działania immunosupresyjnego, modyfikuje odpowiedź w warunkach stanu zapalnego w komórkach śródbłonka, chroni integralność warstwy tego śródbłonka przed wpływem TNF-α, który zwiększa jej przepuszczalność. Pisze również, że β-escyna zwiększa syntezę cholesterolu w komórce (str.27), co u osób chorujących na otyłość, w moim przekonaniu może przynieść ujemne skutki i generować powikłania sercowo-naczyniowe (?). Stwierdzam, że zdecydowana

większość przytaczanych przez Doktorantkę badań z tą substancją została wykonana na modelach mysich, a publikacje dotyczące tego tematu pochodzą sprzed 10 lat. Założenia swojej pracy dotyczące zastosowania β-escyny w redukcji masy ciała mgr Ewa Zygmanowska opiera na badaniu naukowców japońskich z 2006 roku. Autorzy tych prac wykazali (na modelu zwierzęcym) wpływ β-escyny izolowanej z nasion kasztanowca japońskiego na obniżanie aktywności lipazy trzustkowej, co powodowało obniżenie masy ciała myszy, masę otrzewnowej tkanki tłuszczowej oraz stężenie triglicerydów w osoczu. W innym badaniu na zwierzętach z 2008 roku, wykazano więcej niestrawionych tłuszczów w kale koni, a ten efekt przypisano „zahamowaniu" (a może zmniejszeniu?) trawienia tłuszczów. Autorka pisze, że „praca ta sugeruje, że β-escyna, poprzez wpływ na zahamowanie trawienia i uniemożliwienie wchłaniania tłuszczów z diety (jaka dawka ma takie działanie?), może przyczyniać się do redukcji masy ciała. Mgr Ewa Zygmanowska pisze również, że inne prace prowadzone na zwierzętach, wykazywały wpływ β-escyny na gospodarkę lipidową, co może mieć korzystny wpływ na masę ciała zwierząt karmionych dietą wysokotłuszczową. Dodatkowo jej wpływ na obniżanie stężenia glukozy we krwi i silne właściwości antyoksydacyjne mogłoby mieć zastosowanie w leczeniu otyłości i jej powikłań. Wydaje mi się jednak, że przypisywanie przez Doktorantkę β-escynie wpływu na zmianę stężenia hormonów tj. leptyny, insuliny oraz trójjodotyroniny i tyroksyny nie zostały dostatecznie udowodnione i może być to jedynie efekt pośredni, np. uzyskany w trakcie redukcji masy ciała. Natomiast aronia czarnoowocowa (*Aronia melanocarpa*) jest od dawna znanym źródłem wielu substancji bioaktywnych o działaniu przeciwutleniającym, głównie są to antocyjany i inne polifenole. Wykazuje ona właściwości przeciwzapalne, ochronne dla układu sercowo-naczyniowego, przeciwcukrzycowe i przeciwnowotworowe (głównie w nowotworach jelita grubego oraz raka piersi), a także immunomodulujące i wzmacniające układ immunologiczny. Doktorantka pisze, że przy spożywaniu jednej szklanki soku z aronii dziennie przez 6 tygodni, wykazano znaczne zmniejszenie stężenie cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL i triglicerydów (nie powinno się używać obecnie nazwy triacyloglicerolі) we krwi oraz wzrost stężenia cholesterolu HDL. Autorka przedstawia też liczne prace potwierdzające wpływ aronii na stężenie glukozy we krwi, poprzez wpływ na zmniejszenie aktywności m.in. α-glukozydazy, amylazy, maltazy i sacharazy – enzymów hydrolizujących węglowodany, co może ograniczać uwalnianie i wchłanianie glukozy z pokarmu. Wskazuje też inne plejotropowe, korzystne działanie ekstraktów z owoców aronii, sugerujące możliwy wpływ substancji czynnych w aronii na redukcję masy ciała (większość badań wykonanych była na modelach mysich).

Wstęp jest dosyć dobrym wprowadzeniem do celu pracy, którym była ocena skuteczności preparatu zawierającego β-escynę i ekstrakt z owoców aronii zastosowanych do redukcji masy ciała u osób z nadwagą i otyłością. Celami szczegółowymi pracy było określnie wpływu preparatu na tłuszczową masę ciała, dystrybucję wody w organizmie i odczuwanie głodu. W tym miejscu zastanawiam się jakie przesłanki miała Doktorantka, żeby domniemywać, że którakolwiek z badanych substancji może mieć wpływ na odczuwanie głodu (wpływ na ośrodek głodu?, czy na ośrodek sytości w podwzgórzu? i/lub ośrodek apetytu w układzie mezolimbicznym?).

Doktorantka prowadziła badanie od października 2018 do grudnia 2018, po uprzednim uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej przy WUM w 2018 roku Nr. KB/191/2018 (str. 37). Do badania włączyła 45 pacjentów w wieku 25-61 lat (86% kobiet, 14% mężczyzn) z różnym stopniem odżywienia (pytanie brzmi skąd byli ci pacjenci i jak ich pozyskiwano do badania? Jakie - poza wiekiem - były kryteria włączenia?). Przyjęto następujące kryteria wyłączenia z badania – nie kwalifikowano osób poniżej 18 i powyżej 65 roku życia oraz chorych z rozsiewem nowotworowym, osób po chemioterapii, radioterapii, z wcześniej istniejącymi przewlekłymi chorobami wątroby, nerek, cukrzycą, przewlekłymi chorobami zapalnymi, z wszczepionym rozrusznikiem serca, z wszczepionymi metalowymi elementami w ciele, z endoprotezami oraz kobiet w ciąży i w trakcie laktacji. Kwalifikacja do badania odbywała się przez lekarza internistę na podstawie wywiadu (str. 37), on też przedstawiał pacjentom cele i zasady prowadzonego badania. U wszystkich uczestników badania wykonano pomiary antropometryczne: masy ciała oraz wzrostu i na tej podstawie wyliczono wskaźniki masy ciała BMI, wykonano analizy składu ciała metodą bioelektroimpedancji z użyciem analizatora BioScan 920 (Maltron) – wszystkie pomiary wykonano trzykrotnie - podczas rekrutacji, po 6 i po 12 tygodniach trwania badania, z zachowanie wszelkich obowiązujących zasad (nie napisano gdzie te badania wykonywano i kto je wykonał? Czy badania te Doktorantka wykonywała osobiście?).

Następnie podczas każdego spotkania uczestnicy badania wypełniali walidowany kwestionariusz poczucia łaknienia (składał się on z 8 pytań z odpowiednimi oznaczeniami za pomocą 5-elementowej skali (od A do E). Odpowiedzi były punktowane w skali od 1 do 5. Wyniki mogły wahać się od 8 (możliwie najniższy) do 40 (możliwie najwyższy). Pozwoliło to mgr Ewie Zygmanowskiej na określenie subiektywnych zmian odczuwania łaknienia w kolejnych etapach badania. Interpretacja uzyskanych wyników polegała na stwierdzeniu, że uzyskanie przez uczestnika niższego całkowitego wyniku ankiety w stosunku do ankiety wypełnionej na wcześniejszej wizycie wskazywało na zmniejszenie łaknienia. W

wykorzystanym, zwalidowanym kwestionariuszu, na potrzeby badania zmodyfikowano pytanie 5, w celu oceny odczuwania smakowitości pożywienia przed i po zastosowaniu preparatu escynowo-aroniowego. Stosowany preparat zawierający β-escynę i ekstrakt z owoców aronii przygotowano w Zakładzie Biochemii i Żywienia Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (skład przedstawiono na str. 39). Zakwalifikowani do badania ochotnicy zostali poinformowani , że preparat należy spożywać bezpośrednio po posiłku, od 3 do 5 razy dziennie w pojedynczych porcjach po 20 ml (zgodnie z załączoną miarką), łącznie przez 12 tygodni. Do badań statystycznych wykorzystano program Statistica 13.1. Istotność różnic wartości początkowych i końcowych parametrów uwzględnionych w kwestionariuszu ankiety dotyczącego łaknienia oceniono testem par Wilcoxona, istotność różnic wartości początkowych i końcowych badanych parametrów antropometrycznych (tłuszczowa masa ciała, beztłuszczowa masa ciała, woda wewnątrzkomórkowa) oceniono za pomocą analizy wariancji z powtarzanymi pomiarami, a pozostałych parametrów – za pomocą nieparametrycznego testu ANOVA-Friedmana i współczynnika zgodności Kendalla. Za istotne statystycznie różnice przyjęto te, gdzie $p<0,05$.

Doktorantka wyniki swojej pracy przedstawiła na 20 stronach, zbierając je w 3 tabele i ilustrując 15 rycinami (gdzie duże odchylenia standardowe i brak wyników poszczególnych osób czynią je mało czytelnymi). Opisując uzyskane wyniki na stronie 40, mgr Ewa Zygmanowska pisze, że pierwsza tura badanych rekrutowana była w listopadzie 2019 roku, a druga tura w lutym 2020 roku (czy to oznacza, że badanie rozpoczynano dwukrotnie, raz w 2018 roku jak opisano w metodologii na stronie 37, a następnie w 2019 i 2020 roku? Dlaczego wtedy badanie przerwano?). Wśród zrekrutowanych 45 osób (kiedy?), badanie ukończyły tylko 24 osoby, co stanowiło 53% badanych (wśród rezygnujących 21 osób żadna nie podała przyczyny, co wydaje się mało prawdopodobne). Ostatecznie, w analizie uzyskanych wyników uwzględniono tylko wyniki pomiarów 24 osób, które spełniały kryteria włączenia do badania (jakie?), a nie posiadały kryteriów wyłączenia z badania. Wśród tej małej grupy badanej, mężczyźni stanowili tylko 17% (n=4). W badaniu wzięło udział 12 osób z otyłością, 9 osób z nadwagą i 3 osoby z prawidłową masa ciała, co już na początku uniemożliwiło Doktorantce porównanie wyników badań w zależności od stopnia odżywienia, a tym bardziej od płci (a wiadomym jest - zwłaszcza dla dietetyka, że parametrów antropometrycznych ani żywieniowych czy oceny preferencji smakowych nie powinno się wykonywać bez podziału na płeć!!). Średni wiek badanych wynosił 42 lata (SD=9,8, mediana 43 lata). Analiza zmian łaknienia u wszystkich badanych łącznie wykazała, że po upływie 12 tygodni stosowania preparatu (podczas gdy nie wiadomo kto i ile tego preparatu stosował 60

ml, 80 ml, czy 100 ml ?) – stwierdzono istotną (p=0,0001) zmianę łaknienia (suma przyznawanych punktów w ankiecie łaknienia zmniejszyła się ze średnio 29 do 25 punktów). Zabrakło tu również grupy placebo, bo być może wyniki mogłyby być podobne, również w tej grupie?

Mgr Ewa Zygmanowska dokonała też oceny poszczególnych punktów ankiety apetytu CNAQ. Zaobserwowano subiektywną zmianę ogólnego łaknienia (p=0,0002), gdzie początkowo apetyt był dobry (4 punkty), a po 12 tygodniach uzyskano wynik - średni apetyt (3 punkty). Z pozycji Recenzenta nasuwa się pytanie, u kogo się ten apetyt zmniejszył? Czy zależało to od stopnia odżywienia? Według badań Doktorantki zmianie uległa też wielkość porcji, po jakiej uczestnicy badania odczuwają sytość – mgr Ewa Zygmanowska stwierdziła istotne subiektywne zmniejszenie się porcji (p=0,0015) i początkowo sytość następowała po zjedzeniu całej porcji (chociaż nie znamy ich wielkości), natomiast po stosowaniu preparatu uczestnicy odczuwali sytość po zjedzeniu połowy porcji (ale przecież preparat wypijano po spożyciu posiłku? to który posiłek się zmniejszał? – ten kolejny spożywany?, czy zależało to od tego - ile razy dziennie uczestnik przyjmował ten preparat – 3, 4 czy 5 razy dziennie?, czy przy każdym posiłku stosowany preparat zmniejszał uczucie sytości i zmniejszał spożycie posiłku o połowę?). W kolejnej ocenie stwierdzono, że po zakończeniu badania uczestnicy istotnie rzadziej odczuwali głód (p=0,0004) – co to oznaczało? Czy jedli rzadziej? Czy spożywali mniej posiłku na przewidzianą porcję? Czy nie podjadali między posiłkami? Czy w końcu to, że nie byli głodni i konsumowali tylko dlatego że wypadała ich pora jedzenia? Jednak w kolejnej analizie Doktorantka stwierdziła, że nie stwierdzono zmiany liczby zjadanych posiłków (p=0,4236). Oceniając subiektywną smakowitość posiłków, stwierdzono, że początkowo oceniono smakowitość jako bardzo dobrą lub dobrą, a po zakończeniu badania większość uczestników oceniała smakowitość jako dobrą (p=0,0128). W przypadku zmiany smakowitości spożywanego jedzenia przed i po przyjmowaniu preparatu, stwierdzono istotne pogorszenie odczuwania smakowitości (p=0,0001). Warto by było dowiedzieć się, czy obniżyła się smakowitość wszystkich potraw, czy tylko niektórych (warto było zrobić analizę preferencji smakowych – to podstawowe narzędzie pracy dietetyka). W ocenie występowania mdłości towarzyszących jedzeniu nie stwierdzono istotnych różnic w czasie trwania badania (p=0,3109), ani w nastroju uczestników w czasie trwania badania (p=0,4802), co miało świadczyć, że stosowany preparat nie miał wpływu na te parametry.

Doktorantka podjęła się również oceny wpływu stosowania preparatu aroniowo-escynowego na skład ciała. Stwierdziła, że po upływie 12 tygodni przyjmowania preparatu zaobserwowano spadek tłuszczowej masy ciała u 42% (n=11) badanych (średnio o 0,19 kg),

ale za to zwiększenie tłuszczowej masy ciała wystąpiło u 58% (n=15), gdzie średni przyrost wynosił 0,12 kg. W badanej grupie, nie stwierdzono statystycznie istotnej redukcji tkanki tłuszczowej po upływie 12 tygodni stosowania preparatu, gdzie w pierwszej fazie badania po 6 tygodniach stwierdzono przyrost ilości tkanki tłuszczowej, a po upływie kolejnych 6 tygodni masa tkanki tłuszczowej była podobna do wartości początkowych. Analiza nie wykazała istotnej statystycznie liniowej tendencji spadkowej dla tłuszczowej masy ciała w kolejnych pomiarach (str. 54, ryc. 11).

Zdecydowanie niekorzystnie u większości badanych osób zmniejszyła się beztłuszczowa masa ciała średnio o 0,52 kg, a jedynie u 31% (n=8) odnotowano jej przyrost. Doktorantka stwierdziła, że zastosowanie preparatu istotnie (p=0,163) przyczyniło się do utraty beztłuszczowej masy ciała (str. 55, ryc. 12). Ponadto analiza wykazała istotną statystycznie (p=0,0386) liniową tendencję spadkową dla parametru (FFM%) w kolejnych pomiarach. Poza tym w wyniku przeprowadzonej analizy nie stwierdzono również istotnego wpływu początkowego poziomu nadmiernej masy ciała (nadwaga/otyłość) na skuteczność/wielkość redukcji masy ciała. Na tej podstawie doktorantka wyciągnęła wniosek, że osoby z prawidłową masą ciała zareagowały podobnie na stosowanie tego preparatu jak te, które miały nadwagę lub otyłość.

W przedstawionej mi do recenzji pracy stwierdzono, że u 69% badanych zaobserwowano zmniejszenie się całkowitej zawartości wody w organizmie (średnio o 0,15 kg). Stwierdzono również istotną statystycznie (p=0,0034) różnicę dla zmiennej TBW w kolejnych pomiarach przeprowadzonych w trakcie podawania preparatu, a po upływie 12 tygodni ilość wody w organizmie istotnie zmalała (średnio o 0,96 punktu procentowego).

Natomiast zawartość wody zewnątrzkomórkowej (ECW) zwiększyła się u 69% (n=18), średnio o 0,01 kg, a u 8 osób (31%) ECW zwiększyła się średnio 0 0,30 kg (str. 52). Niestety nie zgadza się to z wynikami na stronie 57. Analiza wykazała istotną statystycznie (p=0,0015) różnicę dla zmiennej ECW w kolejnych pomiarach w trakcie podawania preparatu (str. 56, ryc. 14) i po 12 tygodniach stosowania preparatu ilość wody zewnątrzkomórkowej w organizmie istotnie malała (średnio o 0,82 punktu procentowego).

Analiza zawartości wody wewnątrzkomórkowej (ICW) zmniejszyła się u 62% (n=16) badanych, a zwiększyła u 38% (n=10). Również analiza po 12 tygodniach stosowania preparatu wykazała, że ilość wody wewnątrzkomórkowej w organizmie istotnie (p=0,0361) zmalała (ryc. 15). Stosunek ECW/ICW zmienił się u 96% (n=23) badanych (zmniejszył się u 79% badanych). Analiza po 12 tygodniach stosowania preparatu wykazała zmniejszenie się tego stosunku z 0,8568 do 0,8456, ale nie było to istotne statystycznie (p=0,3480).

Doktorantka stwierdziła również po 12 tygodniach badania znamienny statystycznie spadek glikogenu średnio o 7,61 g (p=0,0230).

Mgr Ewa Zygmanowska stwierdziła również trzy przypadki ekstremalne (szkoda że bez ich charakterystyki antropometrycznej), u których uzyskano wyraźne efekty 12-tygodniowego stosowania badanego preparatu (zwiększenie ilości beztłuszczowej masy ciała o 2,7 punktu procentowego, zmniejszenie ilości tkanki tłuszczowej o 4,7 punktu procentowego, zmniejszenie się ilości wody zewnątrzkomórkowej o 0,5 punktu procentowego, zmniejszenie się ilości wody wewnątrzkomórkowej o 1,5 punktu procentowego oraz zmniejszenie się ilości glikogenu o 2 g. Jednak w dyskusji Doktorantka sama dodała, że były to osoby z bardzo wysoką motywacją do redukcji masy ciała, co mogło spowodować równoczasową zmianę ich nawyków żywieniowych, zwiększenie aktywności fizycznej i mogło być zupełnie niezależne od stosowanego preparatu (w dodatku, że nie wiadomo czy i ile oraz jak często ten preparat stosowali?).

Dyskusja uzyskanych wyników przeprowadzona jest rzeczowo, w oparciu o literaturę tematu, przedstawioną na 11 stronach. Z pozycji recenzenta zabrakło mi w tej dyskusji omówienia wpływu czynników środowiskowych, metabolicznych i psychologicznych na kształtowanie uczucia głodu, sytości oraz łaknienia (regulacji centralnej oraz obwodowej). Zabrakło też krytycznego odniesienia się do uzyskanych wyników, zwłaszcza, że dotyczyły one zaledwie 24 osób (12 osób otyłych, 9 osób z nadwagą i 3 osób z prawidłową masą ciała).

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka sformułowała ogólny wniosek końcowy podsumowujący uzyskane wyniki, stwierdziła Ona, że wyniki przeprowadzonego badania wskazują, że preparat escynowo-aroniowy prowadzi do zahamowania łaknienia (z czym się absolutnie nie zgadzam) i jego stosowanie może wspomóc realizację zaleceń dietetycznych. Co prawda mgr Ewa Zygmanowska zwraca uwagę (we wniosku końcowym), że ze względu na niewielką liczbę uczestników, badanie należy uznać za pilotażowe, natomiast twierdzi, że obiecujące wyniki (co oczywiście budzi moją dużą wątpliwość) stanowią zachętę do przeprowadzenia oceny skuteczności preparatu w większej grupie uczestników. Jedynie słusznie uważa, że należy rozważyć wprowadzenie systemu pozwalającego na nadzorowanie przyjmowania preparatu przez uczestników badania. Wnioski nie odpowiadają w pełni na postawione cele pracy dotyczące wpływu badanego preparatu na tłuszczową masę ciała oraz dystrybucję wody w organizmie.

Praca jest napisana starannie, chociaż doktorantka nie ustrzegła się błędów literowych, odnajduję też błędy edytorskie w cytowanej literaturze (np. w niektórych pozycjach brak jest stron cytowanych artykułów). Mgr Ewa Zygmanowska zastosowała w pracy 174 pozycje

literaturowe z czego aż 89 z nich jest sprzed dziesięciu lat (dużo prac z lat 80-tych i 90-tych ubiegłego wieku). Praca ta ma walory poznawcze ale bez implikacji klinicznych i możliwości praktycznego wykorzystania.

W podsumowaniu, z pozycji Recenzenta uważam, że:

1. Tematyka badań, jaką podjęła się mgr Ewa Zygmanowska jest ciekawa, ale błędnie przygotowany protokół badania:

   a/ wykorzystanie do oceny łaknienia jedynie screeningowego kwestionariusza łaknienia,

   b/ dużo czynników zakłócających (stosowanie rożnych diet, nieznana aktywność zawodowa i pozazawodowa badanych),

   c/ analiza łaknienia (głodu, sytości, apetytu) jako średnia odpowiedzi subiektywnych u osób o różnym stopniu odżywienia (osoby z otyłością, z nadwagą, z należną masą ciała),

   d/ brak grup kontrolnych (w tym grupy z placebo),

   e/ zalecanie różnych dawek preparatu od 3 do 5 razy dziennie (60 ml, 80 ml, 100 ml), oraz brak kontroli nad stosowaniem preparatu uniemożliwia mi ocenę tej pracy i możliwość jej wykorzystania w praktyce klinicznej. Uważam, że w takim stanie praca ta nie powinna być publikowana, nawet jako badanie pilotażowe.
2. Skoro przesłaniem mgr Ewy Zygmanowskiej do postawienia celów badawczych było zastosowanie preparatu z β-escyną i aronią, odnośnie których w cytowanej literaturze wykazano, że wpływają raczej na procesy trawienia tłuszczów i węglowodanów, moje pytanie brzmi, dlaczego Doktorantka nie pokusiła się o sprawdzenie działania tego preparatu na parametry gospodarki lipidowej i/lub węglowodanowej u badanych uczestników?
3. Praca przedstawiona mi do recenzji jest pracą niskobudżetową, wymagała jedynie kosztów na pokrycie użytych substancji w badanym preparacie i czasu Doktorantki na przeprowadzenie krótkiej, mało skomplikowanej ankiety oraz wykonaniu szybkich i nieinwazyjnych pomiarów składu ciała. Moje pytanie brzmi dlaczego ostatecznie została przebadana tak mała grupa uczestników (n=24)? Wydaje się, że od 2018 roku można było pozyskać nowych uczestników badania, dobrać właściwe wielkości grup do oceny statystycznej? Można też było zaplanować to badanie w innym terminie niż okres okołoświąteczny (o czym dietetyk powinien wiedzieć). Badanie w końcu zaplanowane było tylko na 12 tygodni... Poza tym Doktorantka nie miała żadnej

kontroli nad ilością stosowanego preparatu u badanych osób. Pisze, że „większość uczestników badania przyznała się do omijania dawek (mimo tego, że większość z nich była pracownikami systemu ochrony zdrowia" - str. 64). Moje pytanie brzmi, jak można wnioskować o skuteczności lub nieskuteczności takiego preparatu?

4. Wnioskowanie jest niezgodne z uzyskanymi wynikami, jest bardziej wnioskowaniem życzeniowym. Uważam, że nie można zalecać chorym na otyłość suplementu diety, który może u nich spowodować przyrost tkanki tłuszczowej, a obniżenie masy tkanki pozatłuszczowej (w tym tkanki mięśniowej), bo razem z redukcją masy mięśniowej obniży się u nich spoczynkowa przemiana materii, co utrudni dalsze leczenie chorego z otyłością. Poza tym obniżenie wody całkowitej w ustroju, a tym bardziej wody wewnątrzkomórkowej jest niekorzystne dla pacjenta chorującego na otyłość (oni zwykle mają i tak za mało wody w ustroju, chyba, że doszło u nich do zaburzeń układu krążenia i obrzęków obwodowych). Zresztą Doktorantka sama pisze w dyskusji, że „na rynku znajduje się wiele substancji o deklarowanej skuteczności w odchudzaniu (nawet nie w leczeniu tej choroby), jednak w przeważającej większości ich skuteczność nie jest poparta wystarczającymi badaniami naukowymi". Tym bardziej nie zgadzam się z optymistycznymi wnioskami zaproponowanymi przez Doktorantkę i nie zgadzam się ze stosowaniem takich suplementów diety. Wnioskowanie, że badany preparat β-escyny i ekstrakt z owoców aronii prowadzi do zahamowania łaknienia (str. 67), sugeruje, że jest preparatem anorektycznym, co uważam za niezgodne z przedstawionymi wynikami badań (on nawet nie u wszystkich zmniejszał subiektywne odczucie obniżenia łaknienia oceniane z zastosowaniem subiektywnej oceny). Poza tym doktorantka, jako dietetyk nie może mylić uczucia głodu z apetytem (który najczęściej towarzyszy jedzeniu emocjonalnemu, uzależnieniu od smakowitych pokarmów), to nie są jednoznaczne pojęcia odczuwania łaknienia. Poza tym nie można wspólnie, jako średnia arytmetyczna analizować uczucia głodu u osób z prawidłową masą ciała i u chorych z otyłością, bo już powszechnie wiadomym jest, że mają oni inną sygnalizację w ośrodkowym układzie nerwowym, inne wydzielanie hormonów jelitowych, stężenia poposiłkowe insuliny i leptyny w surowicy. Często chorym na otyłość towarzyszą zaburzenia w układzie dopaminergicznym – układzie nagrody (w układzie mezolimbicznym). Poza tym łatwiej jest osiągnąć redukcję masy tkanki tłuszczowej jak ktoś ma jej więcej (ale po co ją redukować u osób z prawidłową masą ciała i mających należną i potrzebną

ustrojowi ilość tkanki tłuszczowej? Przy uśrednianiu tych wyników można uzyskiwać absurdalne wnioski!).

5. Jeśli doktorantka pisze w dyskusji na str. 61, że wyniki przeprowadzonego badania wykazały istotny wpływ badanego preparatu na łaknienie... szybciej pojawiające się uczucie sytości po posiłku i zmniejszenie odczuwania głodu" po spożyciu tego preparatu, to dlaczego uczestnicy przybierali na wadze? Czy u nich nie było możliwości uzyskania ujemnego bilansu energetycznego? Dlaczego mgr Ewa Zygmanowska jako dietetyk nie sprawdziła u badanych uczestników ilości spożycia na podstawie podstawowego narzędzia używanego przez dietetyka – dzienniczka żywieniowego (metoda prosta, łatwa i tania, nie zwiększająca kosztów podjętego badania), przydatna byłaby tu również metoda częstości spożycia produktów i potraw oraz analiza preferencji smakowych.

W podsumowaniu uważam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska ma postawione oryginalne cele badawcze i wykazuje odpowiedni poziom ogólnej wiedzy teoretycznej w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki o zdrowiu. Jednak niewłaściwie dobrane metody badawcze oraz sam sposób przeprowadzenia badania, uniemożliwiły wyciągnięcie obiektywnych wniosków naukowych. Dlatego w mojej ocenie nie spełnione są przez pracę doktorską warunki wymienione w art. 13 ust 1. (Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 z późn. zm.).

Sporządzoną przez mnie recenzję rozprawy doktorskiej mgr Ewy Zygmanowskiej powierzam Radzie Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

KIEROWNIK
Zakładu Dietetyki i Żywienia Klinicznego
prof dr hab. n. med. Lucyna Ostrowska

Prof. dr hab. n. med. Lucyna Ostrowska