



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra Biochemii Farmaceutycznej
Zakład Biomedycznych Analiz Środowiskowych
Dr hab. inż. Marta Kepińska, prof. UMW

Wrocław, 13.09.2023 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej

mgr Joanny Rogulskiej

Tytuł pracy: Szacowanie stabilności oksydacyjnej mieszanin do żywienia pozajelitowego o różnym składzie i wpływ długotrwałego żywienia tymi preparatami na wskaźniki stresu oksydacyjnego u chorych wymagających długotrwałego żywienia pozajelitowego

wykonanej w Zakładzie Bioanalizy i Analizy Leków

Wydziału Farmaceutycznego, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

pod kierunkiem

Promotor: dr. hab. Joanny Giebułtowiec oraz
Promotora pomocniczego: dr Sylwii Osowskiej

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Joanny Rogulskiej dotyczy analizy wpływu rodzaju zastosowanego roztworu aminokwasowego i emulsji lipidowej w mieszaninach żywieniowych na stopień peroksydacji lipidów (LP) oraz na równowagę pro/antyoksydacyjną osocza pacjentów żywionych pozajelitowo.

Całkowity dorobek naukowy Doktorantki stanowi 5 prac, z czego w czterech jest pierwszym autorem. Trzy prace, których jest pierwszym autorem stanowią podstawę przedłożonej rozprawy doktorskiej (sumaryczny IF= 11,639; Suma pkt MEiN = 260).

Rozprawę stanowi tematycznie jednorodny cykl trzech publikacji opublikowanych w czasopiśmie *Prospects in Pharmaceutical Sciences* (1. publikacja - przeglądowa, przyjęta do druku), *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* (2. publikacja - oryginalna, opublikowana), *Clinical Nutrition* (3. publikacja - oryginalna, opublikowana) z dołączonymi, wymaganymi przepisami prawa oświadczeniami współautorów o ich udziale w poszczególnych pracach. Z przedstawionych oświadczeń wynika wkład twórczy doktorantki i został on zadeklarowany dla wyżej wymienionych prac odpowiednio na 35, 40

i 40%. Cykl publikacji został wzbogacony o „Wprowadzenie” z piśmiennictwem, „Cele badań” oraz „Podsumowanie i wnioski”. Praca, której treść odpowiada tytułowi, zawiera również streszczenie w języku polskim i angielskim.

W rozdziale pt. „Wprowadzenie”, mgr Joanna Rogulska nakreśliła znaczenie żywienia pozajelitowego (PN) jako metody dostarczania składników odżywczych pacjentom niezdolnym do przyjmowania pokarmu doustnie lub drogą enteralną. Skupiono się na problemie LP w mieszaninach typu "all-in-one" (AIO) stosowanych w PN. Peroksydacja lipidów prowadzi do powstawania niestabilnych cząsteczek, takich jak wolne rodniki, które mogą uszkadzać komórki i być potencjalnie mutagenne. Stopień LP zależy od rodzaju zastosowanych kwasów tłuszczowych w mieszaninach AIO. Długotrwałe narażenie na produkty LP może prowadzić do obniżenia zdolności przeciwutleniającej organizmu oraz zwiększenia stresu oksydacyjnego u pacjentów otrzymujących żywienie pozajelitowe w domu (HPN). Dostępnych jest wiele różnych lipidowych emulsji do stosowania w PN, które mogą mieć wpływ na LP i bilans przeciwutleniaczy. Doktorantka zaznaczyła, że brak jest dostatecznej wiedzy na temat bilansu przeciwutleniaczy u dorosłych pacjentów otrzymujących PN oraz na temat wpływu różnych emulsji lipidowych na ten bilans.

W związku z powyższym Doktorantka podjęła następujące cele badawcze:

- 1) przegląd piśmiennictwa dotyczącego LP oraz metodyki ich analizy w PN;
- 2) ocena, jak trwale są mieszaniny stosowane w żywieniu pozajelitowym, czy roztwory aminokwasów mają wpływ na stopień LP w tych mieszaninach;
- 3) zbadanie, czy PN ma wpływ na bilans przeciwutleniaczy i prooksydacyjnych substancji we krwi pacjentów. W trakcie analizy uwzględniono także obecność chorób współistniejących u badanych pacjentów.

Analizując treść publikacji wchodzących w zakres rozprawy doktorskiej, cykl należy uznać za spójny tematycznie. We wstępach poszczególnych prac cyklu autorka zwięźle przedstawia istniejący stan wiedzy, stanowiący podbudowę poszczególnych zagadnień badawczych oraz precyzuje cele naukowe.

W publikacji nr 1 („Wskaźniki peroksydacji lipidów w żywieniu pozajelitowym.”; *Prospects in Pharmaceutical Sciences*; IF=0,1, MEiN=20), opisane zostały procesy związane z LP, stresem oksydacyjnym i zależności pomiędzy stosowanymi emulsjami tłuszczowymi a spodziewanymi produktami peroksydacji. Znajomość tych procesów jest konieczna do dokładnej oceny poziomu peroksydacji i właściwego wyboru wskaźnika peroksydacji.

W publikacji nr 2 (“*Effect of different amino acid solutions on the oxidative stability of three different lipid emulsions in all-in-one admixtures.*”; *J Parenter Enteral Nutr.*; IF=3,896,

MEiN=100) Doktorantka zbadała wpływ dwóch różnych roztworów aminokwasów na LP trzech różnych emulsji lipidowych (Intralipid, ClinOleic i SMOFlipid) w mieszaninach typu AIO podczas 24 godzinnego symulowanego podawania. Oceniono proces LP i porównano emulsje lipidowe pod względem stabilności oksydacyjnej. Proces LP został oceniony poprzez pomiar stężenia malondialdehydu (MDA) metodą chromatografii cieczowej wysokiej wydajności oraz koniugowanych dienów i trienów za pomocą spektrofotometrii UV-VIS. Stężenie MDA było niższe w przypadku stosowania preparatu SMOFlipid (9 μM) w porównaniu z Intralipid (27 μM , $P = 0,0003$) i ClinOleic (25 μM , $P = 0,0001$). W trakcie symulowanej infuzji, ClinOleic wykazywał istotnie niższą szybkość LP (26% spadek poziomu aldehydu) w porównaniu z preparatami Intralipid i SMOFlipid (do odpowiednio 39% i 31% wzrost poziomu aldehydu), gdy mieszanina była oparta na Aminomel 10E. Mieszaniny oparte na Nephroprotect, ClinOleic i SMOFlipid wykazywały lepszą stabilność oksydacyjną w porównaniu z Intralipid. Mieszaniny oparte na Nephroprotect i Intralipid wykazywały wyższe stężenie produktów LP niż te oparte na ClinOleic ($P = 0,030$) lub SMOFlipid ($P = 0,071$). Doktorantka wykazała, że rodzaj roztworów aminokwasowych ma istotny wpływ na LP w mieszaninach żywieniowych, a różne emulsje lipidowe wykazywały różną stabilność oksydacyjną.

W publikacji nr 3 (*"Antioxidant balance in plasma of patients on home parenteral nutrition: A pilot study comparing three different lipid emulsions."*; *Clin Nutr.*; IF=7,643, MEiN=140); Doktorantka zbadała wpływ PN na równowagę antyoksydacyjną osocza pacjentów żywionych pozajelitowo w domu (HPN), zarówno tych bez współistniejących chorób jak i z chorobami współistniejącymi. Badano również, czy rodzaj emulsji lipidowej użytej w PN wpływa na tę równowagę oraz czy współistniejące choroby mają wpływ na poziom LP. Badanie obejmowało dorosłych pacjentów na HPN ($n = 86$), którzy otrzymywali jedną z trzech emulsji lipidowych (opartych na: 1) oleju sojowym, 2) oleju oliwkowo-sojowym lub 3) olejów sojowego, kokosowego, oliwkowego i rybiego) w mieszaninach typu AIO. Zbadano również grupę kontrolną składającą się z osób zdrowych ($n = 66$). Pacjenci na HPN zostali podzieleni na podgrupy: a) pacjenci bez współistniejących chorób ($n = 58$) oraz pacjentów ze współistniejącymi chorobami ($n = 28$), b) pacjenci otrzymujący Intralipid ($n = 53$), ClinOleic ($n = 17$) lub SMOFlipid ($n = 16$). Doktorantka oznaczyła w osoczu badanych aktywność całkowitej peroksydazy glutationowej (GSH-Px), peroksydazy glutationowej zależnej od selenu (Se-GSHPx) i S-transferazy glutationu (GST) metodami spektrofotometrycznymi. Potencjał przeciwutleniaczy osocza określano za pomocą zdolności pochłaniania rodników tlenu (ORAC). Stężenie MDA analizowano za pomocą chromatografii

cieczowej wysokiej wydajności i było ono najwyższe w przypadku stosowania preparatów Intralipid i najniższe w przypadku SMOFlipid ($p < 0,05$). U pacjentów przyjmujących SMOFlipid wykazano również najwyższą aktywność GSH-Px. W porównaniu z grupą kontrolną u pacjentów na HPN stwierdzono istotnie niższą aktywność GST ($p = 0,0293$) i ORAC ($p < 0,0001$). Spośród wszystkich badanych parametrów tylko stężenie MDA było istotnie wyższe u pacjentów z współistniejącymi chorobami w porównaniu do tych bez nich. Wpływ chorób współistniejących nie wpłynął na stężenie MDA w przypadku Intralipid i SMOFlipid, nadal pozostawał on najniższy w przypadku SMOFlipid ($p = 0,0033$). W przypadku ClinOleic stwierdzono istotnie wyższe stężenie MDA u pacjentów z chorobami współistniejącymi (w porównaniu do tych bez nich) ($p = 0,0262$). Pacjenci na HPN mają niższe mechanizmy obronne przeciwutleniające niż osoby zdrowe. Rodzaj emulsji lipidowej stosowanej w HPN wpływa na LP (nawet po uwzględnieniu współistniejących chorób, które często wiążą się ze stresem oksydacyjnym), przy czym najwyższy poziom peroksydacji występował w przypadku stosowania Intralipid, a najniższy w przypadku SMOFlipid. Aby zminimalizować ryzyko stresu oksydacyjnego, w przypadku pacjentów na HPN, szczególnie tych z chorobami współistniejącymi, można rozważyć stosowanie SMOFlipid. ClinOleic może być rozważany u pacjentów na HPN bez chorób współistniejących.

Podsumowując, do najważniejszych osiągnięć Doktorantki, wynikających z realizacji badań prowadzonych w pracy, należy zaliczyć wykazanie, że:

- 1) roztwór aminokwasowy i emulsja lipidowa mają wpływ na stężenie produktów LP, dlatego też wybór odpowiedniej emulsji lipidowej do konkretnego roztworu aminokwasowego może wpłynąć na poziom LP w mieszaninie żywieniowej. Jest to ważne, zwłaszcza w kontekście klinicznym;
- 2) ze względu na różnice w LP wynikające z utleniania różnych kwasów tłuszczowych, ważne jest odpowiednie dostosowanie metodyki badań i dobór markerów utleniania;
- 3) rodzaj użytej emulsji tłuszczowej i roztworu aminokwasowego w żywieniu pozajelitowym może wpływać na równowagę pro/antyoksydacyjną osocza pacjentów, co ma znaczenie w kontekście leczenia i odżywiania pacjentów;
- 4) przewlekłe choroby współistniejące mogą mieć istotny wpływ na wyniki badań stresu oksydacyjnego;
- 5) użycie emulsji tłuszczowej SMOFlipid może wiązać się z niższym stresem oksydacyjnym, co sugeruje potencjalne korzyści w leczeniu pacjentów żywionych pozajelitowo.

Wybór odpowiednich składników w mieszaninach żywieniowych może mieć istotny wpływ na zdrowie pacjentów żywionych pozajelitowo, zwłaszcza w kontekście peroksydacji

lipidów i równowagi pro/antyoksydacyjnej. Te badania mogą przyczynić się do zwiększenia bezpieczeństwa leczenia żywieniowego u pacjentów, szczególnie tych cierpiących na poważne choroby przewlekłe.

Za mankamenty recenzowanej dysertacji uważam, że:

- 1) przedłożona w rozprawie doktorskiej do cyklu publikacja nr 1 jest w formie niepełnej, z niewłaściwą numeracją stron, błędnym numerem DOI, błędnie przypisaną bibliografią. Brakuje również informacji, że jest to praca na etapie „przyjęta do druku”.
- 2) badania, przeprowadzone na materiale biologicznym, zawarte w publikacji 3 cyklu wymagają zgody Komisji Bioetycznej. We wspomnianej pracy zamieszczono informację „*All participants admitted to the study signed an informed consent form...*”, nie znalazłam jednak podanego numeru zgody Komisji Bioetycznej ani informacji kto ja wydał;
- 3) publikacje z dorobku doktorantki, które nie wchodzą do cyklu, obejmują dwie prace opublikowane w 2010 roku oraz w 2013 roku. Ukazały się one w latach, kiedy obowiązywała inna punktacja MNiSW i odpowiednio praca 1 z 2010 roku ma punktów 32 natomiast praca 2 z 2013 ma punktów 15. Zatem przedstawiona punktacja jest nieprawidłowa.

Wskazane nieścisłości nie obniżają wartości rozprawy, która jest znaczącym osiągnięciem badawczym.

W podsumowaniu oświadczam, że przedłożona mi do recenzji dysertacja doktorska pt. „*Szacowanie stabilności oksydacyjnej mieszanin do żywienia pozajelitowego o różnym składzie i wpływ długotrwałego żywienia tymi preparatami na wskaźniki stresu oksydacyjnego u chorych wymagających długotrwałego żywienia pozajelitowego*” jest oryginalnym dorobkiem naukowym Kandydatki i spełnia warunki Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2010 r. poz. 85 z późn.zm.). Dlatego przedkładałam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie Pani mgr Joanny Rogulskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA BIOCHEMII FARMACEUTYCZNEJ

Asystent

dr hab. inż. Marta Kepińska, prof. uczelni

