

Katowice, 14.08.2018

## RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. Karoliny Majewskiej  
z Katedry i Zakładu Leczenia Otyłości, Zaburzeń Metabolicznych

oraz Dietetyki Klinicznej

Wydziału Lekarskiego I

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego  
w Poznaniu

zatytułowanej:

### **Ocena wpływu 12-tygodniowej suplementacji preparatem probiotycznym na wybrane parametry dysfunkcji śródbłonka naczyniowego u otyłych kobiet**

Rozpowszechnienie otyłości przyjęło już rozmiar epidemii i stanowi poważne wyzwanie XXI wieku. Nadmierna masa ciała jest uznaną przyczyną zwiększonej zachorowalności i śmiertelności z powodu incydentów sercowo-naczyniowych. U podstaw rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego leży nieprawidłowa funkcja śródbłonka naczyń tętniczych. W złożonej patogenezie dysfunkcji śródbłonka u otyłych pacjentów obok udziału klasycznych czynników ryzyka, stanowiących zarazem typowe powikłania otyłości, takich jak nadciśnienie tętnicze, zaburzenia gospodarki lipidowej i węglowodanowej, rozważa się także rolę nowych czynników m.in. przewlekłego wewnątrznaczyniowego procesu zapalnego, stresu oksydacyjnego oraz hiperhomocysteinemii. Wiele prac badawczych poświęcono dotychczas analizie znaczenia mikroflory jelitowej w patogenezie otyłości, cukrzycy. Badania w ostatnich latach wskazują na potencjalny udział zaburzeń w składzie mikroflory jelitowej w rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego.

Problemy nadwagi i otyłości dotyczące wg. WHO ok. 40 % populacji dorosłych mieszkańców Ziemi stanowią wyzwanie dla medycyny ogólnie pojętej a zaburzenia

metaboliczne i hormonalne występujące w przebiegu otyłości mają poważne następstwa zdrowotne.

Probiotyki ( z języka greckiego – „*pro bios*” „dla życia”) te przyjazne organizmowi bakterie są nieodzownym elementem naszego życia. W okresie okołoporodowym i w pierwszych dniach życia, dochodzi do zasiedlenia przewodu pokarmowego mikroflorą budującą zarówno odporność noworodka na całe życie, a na bieżąco umożliwiającą adaptację przewodu pokarmowego dziecka do prawidłowego trawienia pokarmu matki. Ten wczesny okres kolonizacji bakteriami matki także chroni noworodka mn. przed alergenami pokarmowymi i wzmacnia jego odporność na zakażenia.

Biorąc pod uwagę fizjologiczną rolę probiotyków w organizmie ludzkim, każda ich zmiana w składzie ilościowo-jakościowym ( dysbioza) w przebiegu naszego życia, może mieć wpływ na liczne powikłania zdrowotne, w tym na rozwój chorób sercowo-naczyniowych skojarzonych z otyłością.

Według danych Ministerstwa Zdrowia ok. 70 populacji polskiej używa na stałe lub sporadycznie probiotyków i suplementów diety. Zatem każde badanie ich składu, celowości zastosowania i efektów leczniczych jest niezwykle potrzebne.

Zatem temat podjęty przez Doktorantkę uważam za bardzo aktualny i ważny.

Wiele prac badawczych poświęconych jest roli mikroflory jelitowej w patogenezie otyłości, cukrzycy oraz winnych zaburzeniach metabolicznych. Dowody z badań przeprowadzonych w ostatnich latach, wskazują również na potencjalne znaczenie zaburzeń w składzie mikroflory jelitowej w rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego.

Modyfikacja składu flory jelitowej może odbywać się za pomocą preparatów probiotycznych. Prowadzone badania kliniczne potwierdzają ich prozdrowotne właściwości. Udokumentowano skuteczność kliniczną w leczeniu zaparć, biegunek, infekcji układu moczowo-płciowego. Szczególną uwagę poświęca się możliwościom korzystnego oddziaływania probiotyków w zapobieganiu i leczeniu otyłości a także związanych z nią powikłań. W dostępnym piśmiennictwie pojawia się coraz więcej prac oceniających efekt suplementacji wybranym szczepem bakterii na śródbłonek naczyń krwionośnych

Wyniki badań na modelach zwierzęcych są obiecujące i zachęcają do prowadzenia badań klinicznych u ludzi. Należy pamiętać, że prozdrowotne właściwości probiotyku zależą nie tylko od ilości bakterii wchodzących w skład przyjmowanego suplementu. Stosowanie preparatów wieloszczepowych może przynieść dodatkowe efekty i korzyści kliniczne wynikające ze wzajemnego oddziaływania poszczególnych szczepów bakterii – zarówno synergicznego, jak i antagonistycznego.

Przedmiotem badań w niniejszym pracy była ocena wpływu 12-tygodniowej suplementacji preparatem wieloskładnikowym, zawierającym 8 szczepów bakterii probiotycznych, na wybrane parametry biochemiczne: profil lipidowy, stężenie glukozy, inne (IL-6, TNF- $\alpha$ , TAS, homocysteinę) i parametry czynnościowe (sztywność naczyń tętnicznych) z oceną funkcji śródbłonna naczyniowego u otyłych kobiet.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa liczy łącznie 112 stron i posiada klasyczny układ dla pracy doktorskiej. Została podzielona na następujące rozdziały: wstęp, założenia i cel pracy, materiał, metodyka, ograniczenia badania, analiza statystyczna, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenia i piśmiennictwo. Tekst pracy poprzedzony jest spisem treści, wykazem zastosowanych skrótów, na końcu zaś przedstawiono spis tabel i rycin. Praca jest bogato ilustrowana, zawiera 14 rycin i 26 tabel.

We wstępie liczącym 24 strony Doktoranta wykazała się biegłą znajomością światowego piśmiennictwa dotyczącego tematu pracy. Omawia problem otyłości, epidemiologię tej choroby, aktualne kryteria rozpoznania, fenotypy otyłości, dysfunkcję tkanki tłuszczowej w otyłości.

Następnie szeroko omawia rolę śródbłonna naczyniowego jako narządu o potencjale endokrynnym i jego dysfunkcję w otyłości, i rozwoju chorób naczyń. Następnie opisuje mikroflorę przewodu pokarmowego, jej funkcję oraz jej dysbiozę, przechodząc do opisu roli i funkcji probiotyków w organizmie.

Treść tego rozdziału wskazuje na bardzo dobre przygotowanie teoretyczne i znajomość tematu badań Doktorantki.

Autorka jako cele pracy przedstawiła :

1. Ocenę wpływu 12-tygodniowej suplementacji preparatem probiotycznym na parametry gospodarki lipidowej i stężenie glukozy oraz wpływ na inne wybrane parametry biochemiczne oceniane w surowicy krwi u otyłych kobiet.
2. Badała także wpływ 12-tygodniowej suplementacji preparatem probiotycznym na funkcję śródbłonna naczyniowego oceniając wskaźnik sztywności naczyń u otyłych kobiet.

Cele są jednoznacznie sformułowane, interesujące z praktycznego i naukowego punktu widzenia. Rozdział materiał przedstawia kryteria włączenia i wyłączenia badanych, kwalifikacji do poszczególnych grup. Do badań zakwalifikowano ostatecznie 50 badanych otyłych kobiet, podzielonych na dwie grupy po 25 badanych. W rozdziale metodyka przedstawiono zasady rozpoznania otyłości, pomiary antropometryczne, procedury laboratoryjne i badania

biochemiczne, ocenę sztywności naczyń tętniczych, opis stosowanego suplementu i założenia analizy statystycznej.

Wyniki badań zostały przedstawione na 11 stronach, ilustrowane są przez tabele i wykresy.

-Autorka wykazała po 12-tygodniowej suplementacji preparatem probiotycznym następujące istotne różnice między badanymi grupami w stężeniach:

1. istotny statystycznie spadek stężenia TCH, cholesterolu frakcji LDL oraz TG (Tabela 7), czego nie stwierdzono w grupie otrzymującej placebo (Tabela 8). Porównując zmiany ( $\Delta$ ) w zakresie badanych parametrów gospodarki lipidowej pomiędzy grupami stwierdzono istotne statystycznie różnice w zakresie zmiany ( $\Delta$ ) stężenia TCH (Tabela 9, Rycina 10).

2. w grupie badanej zaobserwowano istotnie niższe stężenie glukozy w surowicy krwi, w porównaniu do stężenia wyjściowego (Tabela 10) czego nie zaobserwowano w grupie otrzymującej placebo (Tabela 11), natomiast stwierdzono istotną statystycznie zmianę ( $\Delta$ ) stężenia glukozy w grupie pobierającej preparat probiotyczny w stosunku do uzyskanej zmiany ( $\Delta$ ) stężenia glukozy w grupie, która otrzymywała placebo (Tabela 12, Rycina 11),

3. po suplementacji probiotykiem zaobserwowano istotnie niższe stężenie TNF- $\alpha$  w porównaniu do stężenia TNF- $\alpha$  na początku badania, natomiast nie zaobserwowano istotnych różnic w stężeniu Il-6 po zakończeniu 12-tygodniowej (Tabela 13). Stężenie Il-6 oraz TNF- $\alpha$  na początku i na końcu interwencji w grupie otrzymującej placebo nie różniły się istotnie statystycznie (Tabela 14). Istotna statystycznie natomiast była uzyskana zmiana ( $\Delta$ ) stężenia TNF- $\alpha$  w grupie suplementującej preparat probiotyczny w stosunku do zmiany ( $\Delta$ ) stężenia TNF- $\alpha$  w grupie, która otrzymywała placebo (Tabela 15, Rycina 12).

4. stwierdzono istotny wzrost poziomu TAS w porównaniu do poziomu TAS na początku badania (Tabela 16). Poziomy TAS na początku i na końcu interwencji w grupie otrzymującej placebo nie różniły się istotnie statystycznie (Tabela 17).

5. stwierdzono istotny statystycznie spadek stężenia homocysteiny po okresie 12-tygodniowej suplementacji (Tabela 19), czego nie zauważono w grupie otrzymującej placebo (Tabela 20). Natomiast wykazano istotną statystycznie zmianę ( $\Delta$ ) stężenia homocysteiny w trakcie 12-tygodniowej suplementacji preparatu probiotycznego w stosunku do zmiany ( $\Delta$ ) stężenia homocysteiny w grupie, która otrzymywała placebo (Tabela 21, Rycina 14).

6. w grupie badanej stwierdzono istotny spadek wartości wskaźnika SI po okresie 12-tygodniowej suplementacji (Tabela 22). Wskaźnik SI na początku i na końcu interwencji w grupie otrzymującej placebo nie różnił się istotnie statystycznie (Tabela 23). Analiza porównawcza wartości wskaźnika SI pomiędzy grupami nie wykazała zmian istotnych statystycznie (Tabela 24).

7. Analizę korelacyjną przeprowadzono w grupie suplementującej preparat probiotyczny i dotyczyła ona oceny zależności pomiędzy uzyskaną zmianą ( $\Delta$ ) stężenia TCH, cholesterolu frakcji LDL, HDL i TG, a uzyskaną zmianą ( $\Delta$ ) stężenia Il-6, TNF- $\alpha$  i TAS. Przeprowadzona analiza nie wykazała korelacji istotnych statystycznie (Tabela 25). Analiza korelacyjna w grupie badanej nie wykazała także istotnych statystycznie zależności pomiędzy uzyskaną zmianą ( $\Delta$ ) wskaźnika SI, a uzyskaną zmianą ( $\Delta$ ) stężenia TCH, cholesterolu frakcji LDL, HDL, TG, Il-6, TNF- $\alpha$ , homocysteiny oraz TAS po zastosowaniu 12-tygodniowej interwencji (Tabela 26).

W liczącej 13 stron dyskusji Doktorantka analizuje wyniki swoich badań i konfrontuje je z danymi z piśmiennictwa. Dyskusja jest dojrzała, a Autorka korzysta w niej w sposób właściwy z danych z piśmiennictwa. Umiejętnie posługuje się w niej argumentami przemawiającymi za wagą swoich obserwacji, ale także prezentuje przeciwne dane, krytycznie przedstawia ograniczenia własnej pracy. Powinna w tym miejscu wyraźniej zaznaczyć nowatorskie aspekty swoich badań, bowiem otrzymane wyniki po suplementacji probiotykiem, szczególnie z zakresie pozytywnych zmian pod postacią spadku stężenia cholesterolu, glukozy, TNF-alfa, homocysteiny przy wzroście potencjału oksydacyjnego, są ważne klinicznie. Sposób omówienia wyników świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do samodzielnej pracy naukowej. Świadczy także o tym podrozdział o ograniczeniach metod badawczych.

Wyniki badań zostały podsumowane w dwóch wnioskach, które w pełni odpowiadają założonym celom badawczym. Podkreślić należy, iż obydwie wnioski są bardzo wartościowe z praktycznego punktu widzenia.

Piśmiennictwo obejmujące 185 pozycji, głównie anglojęzycznych z ostatnich lat jest uszeregowane w kolejności cytowania. Zostało ono poprawnie dobrane i umiejętnie wykorzystane w tekście pracy.

Nie mam żadnych uwag recenzenta ( co się zdarza stosunkowo rzadko ). Nie zgłaszam także zastrzeżeń merytorycznych ani formalnych do tekstu rozprawy, praca jest przejrzysta, napisana poprawnie stylistycznie.

Zwrócić natomiast uwagę trzeba na sformułowanie użyte przez Doktorantkę na stronie 25 a mówiące o kolonizacji bakteriami przewodu pokarmowego płodu, bowiem antygenemia bakteryjna pochodząca od matki a stymulująca układ immunologiczny płodu, nie może być jednoznaczna rozumiana z obecnością bakterii w przewodzie pokarmowym płodu. Nieliczne doniesienia mówiące o kolonizacji bakteriami matczynymi płodu i jego środowiska wewnątrzmacicznego, radykalnie zmieniłyby - nasz położników - pogład na jałowość płodu wewnątrz macicy. Dlatego też z należytą ostrożnością należy interpretować wyniki tych skąpych publikacji.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny dysertacja stanowi samodzielny fragment badań naukowych, ma istotne znaczenie praktyczne oraz stanowi wkład w poznanie roli probiotyków u człowieka w otyłości.

Mam zatem zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie I Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, wniosek o dopuszczenie lekarza medycyny Karoliny Majewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego a także zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, po ocenie całokształtu tej pracy doktorskiej, o jej wyróżnienie .

Z poważaniem

KIEROWNIK  
Klinika Endokrynologii Ginekologicznej  
Katedry Ginekologii i Położnictwa  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

*prof. dr hab n. med. Paweł Madej*