



UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej
15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2d
(85) 748-5708, (85) 748-5707

Białystok, 19.06.2023 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej pani **mgr inż. Alicji Heleny Pakiet**
pt: „*Ocena wpływu laparoskopowej operacji pętlowego wyłączenia żołądkowo-jelitowego na poziomi bioaktywnych lipidów w przebiegu otyłości olbrzymiej*”
wykonanej w Katedrze Analizy Środowiska,
Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego
pod kierunkiem: dr hab. Adrianny Marii Mika jako promotora

Wśród wielu zagrożeń cywilizacyjnych obecnego stulecia stwarzającym coraz więcej zagrożeń medycznych i społecznych wydaje się być otyłość, która z poziomu klasycznej patologii zaczyna rozwijać się w chorobę cywilizacyjną stanowiącą problem coraz większej części ludzkości. Rozwój otyłości jest wynikiem przesunięcia równowagi pomiędzy potrzebami energetycznymi organizmu a dostarczanymi kaloriami, w kierunku tych ostatnich, co prowadzi do nadmiernego, w przypadku choroby wręcz krytycznego, przyrostu masy ciała. Efektem są problemy estetyczne i psychologiczne u osób dotkniętych tą chorobą, jednak problemem o charakterze medycznym jest powstawanie zaburzeń metabolicznych, w tym stanów zapalnych, cukrzycy, niewydolność układu krążenia oraz wielu innych. Jednocześnie, jeżeli u osób z otyłością dochodzi do bardzo wysokich wartości BMI ($> 35\text{kg/m}^3$), muszą być oni poddawani leczeniu chirurgicznemu mającemu na celu redukcję masę ciała, co jednocześnie zmniejsza prowadzi do zmniejszenia patologii ogólnoustrojowych, w tym może redukować konsekwencje wynikające z zaburzonego metabolizmu kwasów tłuszczowych.

Biorąc pod uwagę powyższe przesłanki mgr Alicja H. Pakiet postanowiła ocenić zmiany na poziomie kwasów tłuszczowych i ich metabolitów jakie pojawiają się w organizmie chorego jako konsekwencja otyłości olbrzymiej i możliwość ich potencjalnej redukcji w wyniku leczenia chirurgicznego (laparoskopowej operacji pętlowego wyłączenia żołądkowo-jelitowego), co może stwarzać warunki do normalizacji stanu pacjentów.

Cel pracy został bardzo jasno sprecyzowany i wskazuje, że ustalony zostanie wpływ redukcji otyłości poprzez przeprowadzenie laparoskopowej operacji pętlowego wyłączenia żołądkowo-jelitowego na metabolizm kwasów tłuszczowych oceniany poprzez poziom tychże kwasów oraz ich metabolitów, jakimi są oksylipiny

oceniane w surowicy krwi oraz tkance tłuszczowej pacjentów przed i po operacji. Badania te uzupełniono o ocenę wpływu otyłości na profil kwasów tłuszczowych w różnych grupach lipidów w tkankach niedostępnych dla badań na pacjentach (sercu i mózgu).

W ramach opisu metodycznego badań Doktorantka bardzo szczegółowo scharakteryzowała materiał biologiczny (krew, tkanka tłuszczowa) wykorzystany do badań ze wskazaniem dostosowania eksperymentów do wytyczonych Komisji Bioetycznej oraz przedstawiła założenia przeprowadzanych eksperymentów. W założeniach tych uwzględniła również ważną dla analizy statystycznej informację o liczbie, podziale pacjentów od których pobierano próbki do analizy oraz grup myszy wykorzystanych do badań.

Sekcja materiały i metody zawiera ważne z eksperymentalnego punktu widzenia zagadnienia przygotowania materiału biologicznego do profilowania frakcji lipidowej i oznaczania kwasów tłuszczowych za pomocą LC-MS/MS), przy czym zawarte informacje są wystarczające aby zorientować się, że Doktorantka dość swobodnie radzi sobie z tymi wcale nie łatwymi zagadnieniami. Na szczególnie podkreślenie zasługuje szczegółowy opis przygotowania materiału biologicznego do badań (SPE) oraz opisu analizy profilu kwasów tłuszczowych z wykorzystaniem GCMS, jak również metabolitów kwasu arachidonowego i golinolenowego, eikozapentaenowego i dokozaheksaenowego oraz ich metabolitów – oksylipin. Ponadto ocenie poddano stężenie aminokwasów oraz ekspresję na poziomie mRNA enzymów uczestniczących w katabolizmie rozgałęzionych aminokwasów. Uzyskane wyniki korelowano z parametrami klinicznymi i biochemicznymi pacjentów.

W ocenie myszy z modelu otyłości uwzględniono również funkcje serca oraz częściowo proces oksydacyjnych modyfikacji lipidów (produkty peroksydacji) oraz białek (grupy karbonylowe) i poziom cholesterolu,

W opisie uwzględniono warunki oznaczeń oraz elementy walidacji stosowanych metod.

W konsekwencji przedstawiona do recenzji dysertacja zawiera wyniki z kilku poziomów badawczych dotyczących:

- oceny *in vivo*, w surowicy krwi i tkankach pacjentów leczonych bariatrycznie
 - ✓ poziomu kwasów tłuszczowych (z wykorzystaniem techniki GCMS)
 - ✓ ekspresji enzymów katalizujących metabolizm kwasów tłuszczowych
 - ✓ poziomu metabolitów kwasów tłuszczowych, jakimi są oksylipiny (z wykorzystaniem techniki LCMSMS) przed i dwa tygodnie po operacji;
 - ✓
- oceny *in vivo*, w tkance serca i mózgu myszy z zastosowaniem modelu otyłości
 - ✓ zmian w poziomie kwasów tłuszczowych (z wykorzystaniem techniki GCMS).

Uzyskane w wyżej wymienionych badaniach wyniki pozwoliły na uzyskanie miarodajnych wyników. W konsekwencji za najważniejsze dokonania Doktorantki należy uznać:

- scharakteryzowanie profilu wolnych kwasów tłuszczowych oraz zdefiniowanie zmian w ekspresji enzymów odpowiedzialnych za katabolizm aminokwasów rozgałęzionych oraz udział tego procesu w regulacji poziomu rozgałęzionych kwasów tłuszczowych w tkance tłuszczowej osób otyłych
- scharakteryzowanie profilu wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy krwi pacjentów z otyłością olbrzymią po 2-tygodniach oraz 6-9 miesiącach od zastosowanego leczenia bariatrycznego
- scharakteryzowanie profilu oksylipin w surowicy krwi pacjentów z otyłością olbrzymią po 2-tygodniach oraz 6-9 miesiącach od zastosowanego leczenia bariatrycznego
- określenie profilu całkowitych kwasów tłuszczowych oraz kwasów tłuszczowych w wybranych grupach lipidów w tkance mózgu i serca myszy z otyłością wywołaną dietą wysokotłuszczową.

Za najważniejsze wnioski wynikające z badań Doktorantki należy uznać wykazanie, że

- pacjenci z otyłością olbrzymią charakteryzują się niższą zawartością rozgałęzionych kwasów tłuszczowych, co potwierdzają częściowo badania na myszach z modelem otyłości. Zmiany te ulegają częściowo są redukowane w wyniku zastosowania leczenia bariatrycznego, co wg Autorki jest wynikiem ich nasilonej biosyntezy z rozgałęzionych aminokwasów;
- pacjenci leczeni bariatrycznie charakteryzują się obniżonym poziomem wolnych kwasów tłuszczowych, w tym kwasu arachidonowego będącego prekursorem metabolitów prozapalnych.

Praca napisana jest jasnym i poprawnym językiem i czyta się ją bardzo dobrze. Dostarcza też konkretnych danych, które mogą być podstawą do dalszych analiz metabolicznych w odniesieniu do pacjentów z otyłością.

Badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem sprzężonych technik analitycznych i analiz chemometrycznych. Wskazuje to bez wątpienia na zastosowanie w diagnostyce klinicznej nowoczesnego podejścia, gdzie dla potrzeb oceny rutynowej wykorzystuje się obserwacje i interpretację mechanizmów zachodzących na poziomie molekularnym. Zarówno postawiony problem jak i podejście do jego analizy-rozwiązania wskazuje na oryginalność koncepcji, a efekty będące konsekwencją realizacji zamierzonych celów stanowią niewątpliwie „nowość naukową”. Świadczy o tym wykaz publikacji związanych z tematem rozprawy

doktorskiej obejmujący 9 publikacji, w tym 4 (sumaryczny IF=16,538), w których mgr A. Pakiet jest pierwszym autorem oraz 2 monografii naukowych, w których także jest 1 autorem. Jednocześnie Autorka wskazuje 3 projekty badawcze (w tym dwa, w których była kierownikiem), których realizacja także związana była z przygotowaniem materiału do rozprawy doktorskiej. Wskazuje to na bardzo szerokie i rzetelne podejście do badań naukowych.

Uważam, że w świetle obowiązującego prawa (Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce*, a w szczególności artykuły i przepisy; *O stopniach naukowych i tytule naukowym* wraz z uzupełnieniami) przedstawiona rozprawa spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę do Wysokiego Senatu Uniwersytetu gdańskiego o **dopuszczenie** Pani **mgr inż. Alicji Heleny Pakiet** do dalszych etapów postępowania celem uzyskania stopnia **doktora nauk** w dyscyplinie **nauk chemicznych**, dziedzina **nauki ścisłe i przyrodnicze**. Jednocześnie biorąc pod uwagę ogrom przeprowadzonych badań, wnioski z uzyskanych wyników oraz implikacje kliniczne tychże wyników wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Alicji Heleny Pakiet, która spełnia wymagania Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych UG mówiące o 3 publikacjach, gdyż doktorantka jest pierwszym autorem w 4 publikacjach z listy filadelfijskiej, a praca sama w sobie jest dowodem olbrzymich umiejętności eksperymentalnych oraz wiedzy Doktorantki.

Prof. dr hab. Elżbieta Skrzydlewska