

Gdańsk, 2023-09-14

## Recenzja

rozprawy doktorskiej autorstwa mgr inż. Alicji Heleny Pakiet z tytułowanej „*OCENA WPŁYWU  
LAPAROSKOPOWEJ OPERACJI PĘTLOWEGO WYŁĄCZENIA ŻOŁĄDKOWO-JELITOWEGO NA POZIOM  
BIOAKTYWNYCH LIPIDÓW W PRZEBIEGU OTYŁOŚCI OLBRZYMIJ*”

Do wyzwań zdrowotnych współczesnej cywilizacji poza chorobami sercowo-naczyniowymi i chorobami nowotworowymi należy problem szybko rosnącej populacji osób z nadwagą i otyłych w tym z jej skrajną postacią otyłością olbrzymią. Publikowane przez WHO dane epidemiologiczne są alarmujące przewidując znaczący wzrost w światowej populacji osób otyłych, która w prezentowanych statystykach za rok 2016 wynosiła 13%. Jednocześnie zarówno nadwaga jak i otyłość stanowią poważne wyzwanie zdrowotne ze względu na czynniki ryzyka jakie za sobą niosą. Nie ma zatem wątpliwości, że przedmiot badań podjęty w rozprawie doktorskiej jest niezwykle ważki a zastosowanie nowoczesnych narzędzi badawczych jak lipidomika świadczy o właściwym i innowacyjnym podejściu do tematu badań.

Oceniana praca doktorska mgr. inż. Alicji Pakiet wykonana została w Katedrze Analizy Środowiska, Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem wybitnej ekspertki w zakresie bioanalizy dr hab. Adriany Mika, profesor GUMed i UG. Jest podsumowaniem badań lipidomicznych i metabolomicznych w otyłości zastosowanym leczeniu chirurgicznym. Wyniki badań Doktorantki

znalazły odzwierciedlenie w 9 artykułach oryginalnych opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych z listy *Journal Citation Reports* (JCR) takich jak m.in.: *Int J Obes, Obes Surg, Nutrients* i *International Journal of Clinical Medicine* czy *Molecules* w okresie od 2019 do 2022 roku. Sumaryczna wartość współczynnika wpływu (*Impact Factor, IF*) wszystkich publikacji to blisko 40. W czterech z wymienionych publikacji p. mgr Pakiet jest pierwszym autorem.

Całkowity dorobek publikacyjny Doktorantki, razem z pracami stanowiącymi podstawę osiągnięcia naukowego opisywanego w pracy doktorskiej, na dzień składania rozprawy doktorskiej, to wg bazy *Scopus* w sumie 20 prac (w ośmiu z nich jest pierwszą autorką). Mgr inż. Alicja Pakiet brała udział w konferencjach w kraju, był laureatką projektu PRELUDIUM finansowanego ze źródeł Narodowego Centrum Nauki oraz wykonawcą w innym finansowanym przez NCN (SONATA BIS). Mgr inż. Alicja Pakiet została wyróżniona dwukrotnie nagrodami naukowymi Rektora GUMed za osiągnięcia zespołowe (2021, 2020 r.) oraz nagrodą naukową Rektora UG (2019 r.).

Rozprawa doktorska mgr. inż. Alicji Pakiet ma charakter klasycznego opracowania (monografii) i jest napisana w języku polskim. Trzeba jednoznacznie przyznać, iż przedstawiona dysertacja jest niezwykle obszernym dziełem, obejmuje bowiem ponad 230 stron. Część teoretyczna określona jako 'Wprowadzenie', zajmuje około 40 stron i zawiera bardzo szczegółowe informacje dotyczące badanej problematyki. Kompleksowo zostały opisane zagadnienia związane z otyłością jak m.in.: klasyfikacje otyłości, jej przyczyny i konsekwencje, podstawy patofizjologii oraz metody leczenia otyłości z opisem inwazyjnego podejścia chirurgicznego. Osobno zostały opisane zagadnienia związane z lipidomią w ujęciu badań nad otyłością. Ten ostatni aspekt jest niezwykle cenny, m.in. dlatego że przedstawia aktualnie dostępną wiedzę na temat badań nad rolą kwasów tłuszczowych w tym schorzeniu, co może pomóc czytelnikowi w odpowiednim zaznajomieniu się z tematem.

Cel pracy doktorskiej został prawidłowo sformułowany i przedstawiony w zwięzły sposób, dodatkowo z uwzględnieniem tzw. celów szczegółowych jakie były konieczne do osiągnięcia celu nadrzędnego. Następnie, w dalszej części pracy bardzo dokładnie i szczegółowo opisano takie aspekty pracy eksperymentalnej jak charakterystyka materiału biologicznego z podziałem na materiał pochodzący od ludzi i z mysiego modelu otyłości, analizę kwasów tłuszczowych, analizę oksylipin i zastosowane metody statystyczne. Na kolejnych prawie 50 stronach wymienione są, niezwykle drobiazgowo wyniki prowadzonych oznaczeń profili kwasów tłuszczowych w zebranych materiale biologicznym oraz oznaczenia stężenia oksylipin techniką SPE-LC-MS/MS w surowicy chorych leczonych OAGB. Bardzo ciekawie przedstawiona została dyskusja, w której opisano wpływ interwencji chirurgicznej na obserwowane profile kwasów tłuszczowych w ujęciu krótko- i długoterminowym, wpływ leczenia chirurgicznego na stężenia krążących oksylipin a następnie rozważono rolę zmienionych poziomów wybranych kwasów tłuszczowych na obserwowane powikłania otyłości. Całość wieńczy osobno „Posumowanie” oraz „Wnioski”, przy czym te ostatnie są syntetycznie ujęte w pięciu zwięzłych podpunktach. Wymieniony zakres działań eksperymentalnych podjętych w pracy doktorskiej mgr Alicji Pakiet jest bardzo obszerny i zasługuje na docenienie. Omówienie wyników i ich dyskusja są napisane szczegółowo i bardzo rzetelnie. Udokumentowane zostały w postaci 30 tabel i na 32 rycinach. Na piśmiennictwo umieszczone w pracy składają się 333 (!) pozycje, z czego większość to publikacje, które ukazały w ciągu ostatnich 10 lat. Trudno jednak nie skomentować tak dużej liczby wymienionych w piśmiennictwie prac. Ewidentnie widać jak drobiazgową, żeby nie powiedzieć „tytaniczną” pracę nad piśmiennictwem wykonała Doktorantka przygotowując i realizując zaplanowane badania przy jednoczesnym założeniu zaznajomienia się z istniejącą literaturą.

Zastosowany w badaniach warsztat analityczny, nie budzi najmniejszych zastrzeżeń i jest najwyższego poziomu. Także interpretacja biochemiczna połączona z wnikliwą dyskusją konsekwencji obserwowanych zmian profili kwasów tłuszczowych również zasługują na najwyższe uznanie.

Do wymiernych efektów prowadzonych badań Doktorantki opisanych w dysertacji należą:

- przeanalizowanie i scharakteryzowanie profilu krążących kwasów tłuszczowych w surowicy pacjentów z otyłością olbrzymią podanych zabiegowi bariatrycznemu w funkcji czasu (do 9 miesięcy od zabiegu) i w konsekwencji określenie poziomów nieparzystych kwasów tłuszczowych, rozgałęzionych kwasów tłuszczowych oraz wielonienasyconych kwasów tłuszczowych,

- oznaczenia profilu kwasów tłuszczowych w skupiskach tkanki tłuszczowej osób z otyłością olbrzymią i wykazanie zmian w ekspresji enzymów katabolicznych, co może mieć potencjalnie rolę w regulowaniu zawartości rozgałęzionych kwasów tłuszczowych,

- na podstawie opracowanej i zwalidowanej w pracy metody SPE-LC-MS/MS oznaczano poziom oksylipin w surowicy krwi i wykazano różnicę pomiędzy ich poziomami przed zabiegiem i w czasie po zabiegu,

- przebadano na mysim modelu otyłości profile całkowitych kwasów tłuszczowych oraz profile kwasów w specyficznych grupach lipidów i wskazano zaburzenia ich zawartości, m.in. w mózgu i sercu, co może być przyczyną występujących powikłań otyłości jak problemy neurodegeneracyjne albo rozwój chorób sercowo-naczyniowych.

Praca doktorska mgr. inż. Alicji Pakiet jest bardzo wartościowa i posiada niezaprzeczalne elementy nowości naukowej potwierdzone publikacjami w cenionych czasopismach specjalistycznych. Niemniej jednak, wypada zwrócić również uwagę na te aspekty rozprawy, które budzą pytania bądź

wymagają dodatkowego komentarza. Analizując otrzymane wyniki profili kwasów tłuszczowych np. w surowicy pacjentów z otyłością olbrzymią (5.1.3) w Tabeli 5.4 zestawiono wartości procentowe zawartości poszczególnych związków i wykazano istotność różnic za pomocą wartości testu  $p$ . Czy podjęto próbę analizy wartości  $p$  z zastosowaniem metod korekcji jak poprawka Bonferroniego albo test Benjaminiego-Hochberga? Szczególnie, jeśli spojrzeć się na wyniki analizy w perspektywie krótkoterminowej gdzie wyniki po 2 tygodniach od zabiegu porównywano z tym przed operacją. Chociaż dla niektórych związków różnice są jednoznaczne i nie budzą wątpliwości to przy wielu innych związkach można się zastanawiać czy faktycznie należy różnice w zawartości procentowej odczytywać jako istotne statystycznie, np.: w grupie ECFA, 12:0 przed zabiegiem zawartość procentowa jest 0,137 +/- 0,092 a dwa tygodnie po zabiegu wynosi 0,098 +/- 0,056 a 14:0 przed wynosi 0,997 +/- 0,304 a po 0,801 +/- 0,256 %. Biorąc pod uwagę wartość odchyłeń standardowych można mieć wątpliwość czy różnice te są faktycznie istotne, chociaż w obu tych przypadkach wykazana jest istotność statystyczna za pomocą testu  $p$ . Zastosowanie skorygowanych wartości  $p$  powinno dać jednoznaczną odpowiedź czy obserwowane zmiany mają faktycznie statystycznie istotnie różny charakter. Czy w trakcie analizy profilu kwasów tłuszczowych za pomocą GC-MS wykorzystano próbki QC – kontroli jakości? Typowo w trakcie profilowania metabolomicznego tego typu próbki są wykorzystywane do potwierdzenia jakości i stabilności metody analitycznej a w konsekwencji jakości i wiarygodności otrzymanych wyników? Ostatnia kwestia dotyczy raczej opinii niż jest komentarzem do pracy. Interesuje mnie jak Doktorantka widzi miejsce łączonych analiz lipidomicznych, w których poza GC-MS do otrzymywania jakościowych profili związków wykorzystywane są inne techniki analityczne jak LC-MS czy CE-MS? Czy istnieją w literaturze dane dotyczące oznaczeń transkryptomicznych i/lub proteomicznych w otyłości olbrzymiej, które próbowano korelować/łączyć z danymi lipidomicznymi i czy taki kierunek dalszych badań miałby sens w przypadku prowadzonych przez Panią badań.

Powyższe uwagi i pytania nie wpływają na wartość merytoryczną pracy, którą oceniam bardzo wysoko. Praca doktorska Pani mgr. inż. Alicji Pakiet ma istotne walory nowości i oryginalności naukowej. Dysertacja potwierdza wysoką wiedzę i umiejętności Kandydatki do stopnia naukowego doktora nauk chemicznych.

Rozprawa doktorska mgr inż. Alicji Pakiet spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-3 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z 2018 r. z późniejszymi zmianami. Biorąc powyższe pod uwagę oraz fakt spełnienia wymagań ustawowych wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr inż. Alicji Pakiet do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dyscyplinie nauki chemiczne.

Jednocześnie mając na uwadze dorobek badawczy Doktorantki, w tym szczególnie ten dotyczący badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej, jak również wysoki poziom dysertacji oraz wyników w niej przedstawionych wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Alicji Pakiet.

KIEROWNIK ZAKŁADU  
Biofarmacji i Farmakokinetyki

  
*prof. dr hab. Michał J. Markuszewski*