

Prof. dr hab. inż. Teresa Leszczyńska
 Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki
 Wydział Technologii Żywności
 Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr. Kacpra Aleksandra Szewczyka
 pt. „Tkanka tłuszczowa a zawartość wybranych związków lipidowych i lipofilnych w osoczu krwi osób dorosłych”

Dziedzina nauki medyczne i nauki o zdrowiu, dyscyplina nauki o zdrowiu

Promotor rozprawy doktorskiej - dr hab. Magdalena Górnicka, prof. SGGW
 Katedra Żywienia Człowieka, Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka
 Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Podstawa formalno-prawna:

- Uchwała nr 80/2025 Rady Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 25.03.2025 r. o wyznaczeniu na recenzenta w postępowaniu doktorskim mgr. Kacpra Aleksandra Szewczyka;
- Ustawa Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, art. 187(Dz.U. 2018, poz. 1668, z późn. zm.).

O c e n a f o r m a l n a

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska stanowi spójny tematycznie cykl następujących, trzech zrecenzowanych artykułów naukowych:

1. Szewczyk, K., Chojnacka, A., Górnicka, M. (2021). *Tocopherols and Tocotrienols - Bioactive Dietary Compounds; What Is Certain, What Is Doubt?* International Journal of Molecular Sciences, 22, 1–17.
2. Szewczyk, K., Bryś, J., Brzezińska, R., Górnicka, M. (2025). *Nutritional Status of Vitamin E and Its Association with Metabolic Health in Adults*. Nutrients, 17(3), 408.
3. Szewczyk, K., Górnicka, M. (2023). *Dietary Vitamin E Isoforms Intake: Development of a New Tool to Assess Tocopherols and Tocotrienols Intake in Adults*. Nutrients, 15, 1–18.

Wszystkie wymienione powyżej prace zostały opublikowane w czasopismach zamieszczonych na liście Journal Citation Reports (JCR) o wartościach współczynników wpływu Impact Factor (IF), wynoszących odpowiednio 6,2; 4,8; 4,8, łącznie 15,8. Punktacja, zgodnie z wykazem czasopism naukowych MNiSW, wynosi w każdym przypadku 140, czyli łącznie 420.

W pierwszej z wymienionych publikacji udział Doktoranta (70%) polegał na współpracy koncepcji, przeglądzie i analizie przedmiotowej literatury, przygotowaniu roboczej wersji artykułu oraz wizualizacji uzyskanych danych. W drugiej publikacji udział

Doktoranta (60%) dotyczył współtworzenia koncepcji pracy, organizacji badania, współpracowania metodyki oceny stanu odżywienia i oznaczeń biochemicznych, gromadzenia danych i materiału biologicznego, przeprowadzenia analiz biochemicznych, analizy statystycznej uzyskanych wyników, przygotowania manuskryptu i wizualizacji uzyskanych danych. Z kolei w trzeciej publikacji udział Doktoranta (70%) polegał na współtworzeniu koncepcji pracy, współpracowaniu metodyki badań, opracowaniu narzędzi badawczych, przeprowadzeniu badań, gromadzeniu uzyskanych danych, analizie statystycznej i interpretacji wyników, przygotowaniu manuskryptu oraz wizualizacji uzyskanych danych.

Dysertacja przedstawiona do recenzji obejmuje tekst w wymiarze 39 stron, stanowiący przejrzysty i spójny opis załączonych publikacji. Zawiera słowa kluczowe, wykaz komplementarnych trzech publikacji stanowiących rozprawę doktorską, wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp uzasadniający wybór problemu badawczego, cel, zakres pracy oraz hipotezy badawcze, materiał i metody badań, omówienie wyników badań, podsumowanie wraz z weryfikacją hipotez badawczych, stwierdzenia i wnioski oraz spis piśmiennictwa (52 pozycje). Uzupełnieniem są załączniki, czyli kopie 3 opublikowanych prac, pod którymi zamieszczono stosowne oświadczenia współautorów, dotyczące zarówno ich udziału, jak i udziału Doktoranta w realizacji badań i przygotowaniu manuskryptów.

Na przeprowadzenie niniejszych badań uzyskano zgodę Komisji Etyki Badań Naukowych z Udziałem Ludzi przy Wydziale Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW w Warszawie (Uchwała nr 05p/2019).

O c e n a m e r y t o r y c z n a

Jednostka chorobowa, jaką jest otyłość, stanowi poważny czynnik ryzyka innych chronicznych chorób niezakaźnych. Zgodnie z danymi Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) w ciągu ostatnich 50 lat wskaźnik występowania otyłości w skali światowej wzrósł trzykrotnie. Dane statystyczne potwierdzają wzrost przypadków nadwagi i otyłości wśród dzieci, młodzieży, osób dorosłych zarówno w krajach rozwiniętych, jak również rozwijających się. Szczególnie niebezpieczna jest otyłość aneroidalna, charakteryzująca się nagromadzeniem tkanki tłuszczowej trzewnej. Problem zdrowotny może ponadto stanowić okołonaczyniowa tkanka tłuszczowa. Produkując m.in. adipocytokiny prozapalne tkanka tłuszczowa zwiększa w organizmie chroniczny stan zapalny o małym nasileniu, a w konsekwencji zwiększa ryzyko występowania wielu chorób przewlekłych, w tym sercowo-naczyniowych, cukrzycy typu 2, nowotworów i nadciśnienia. Ważnymi składnikami diety, szczególnie w przypadku osób otyłych, są zatem związki o właściwościach antyoksydacyjnych i przeciwzapalnych, do których należy m.in. wit. E, której poszczególne izoformy zmniejszają ekspresję cytokin prozapalnych oraz chronią lipidy ustrojowe przed peroksydacją. Ponadto nadmierna zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie może skutkować zwiększonym zapotrzebowaniem na przeciwutleniacze, powodowanym większym ich zużyciem. Wyniki badań potwierdzają, że osoby z nadmierną zawartością tkanki tłuszczowej charakteryzują się niższym stężeniem we krwi związków lipofilnych o działaniu przeciwutleniającym, w tym również wit. E.

W związku z powyższym, w ramach niniejszej dysertacji przeprowadzono bardzo ważne badania, polegające na ocenie korelacji między nadmierną zawartością tkanki tłuszczowej u badanych osób a stężeniem wybranych tokoferoli i tokotrienoli (α - i γ -tokochromanoli), stężeniem lipidów ustrojowych w osoczu krwi i profilem kwasów

tłuszczowych oraz występowaniem ogólnoustrojowego stanu zapalnego o małym nasileniu. Oszacowano też aktywność enzymów związanych z metabolizmem lipidów.

Podjęcie niniejszych badań poprzedzone zostało bardzo obszernym przeglądem literatury przedmiotowej (116 pozycji), pochodzącej z lat 1987-2021, na podstawie którego przygotowano publikację nr 1. Wykonanie tak obszernego przeglądu literatury poskutkowało bardzo dobrym przygotowaniem Doktoranta do rozpracowania w pełni uzasadnionego celu naukowego oraz skutecznej weryfikacji założonej hipotezy badawczej.

Cele szczegółowe badań obejmowały: (1) analizę związku między zawartością tkanki tłuszczowej a stężeniem α - i γ -tokochromanoli we krwi; (2) ocenę stanu odżywienia witaminą E osób dorosłych z prawidłową i nadmierną zawartością tkanki tłuszczowej; (3) ocenę powiązań zdrowia metabolicznego ze stanem odżywienia witaminą E osób dorosłych z nadmierną zawartością tkanki tłuszczowej; (4) ocenę spożycia tokoferoli i tokotrienoli oraz ich żywieniowych źródeł w grupie osób dorosłych.

W związku z wymienionymi celami szczegółowymi sformułowano **hipotezę główną** oraz 3 następujące hipotezy cząstkowe, cyt. „**H1:** Nadmierna zawartość tkanki tłuszczowej i otyłość centralna są powiązane z niższymi stężeniami α -tokoferolu, γ -tokoferolu, α -tokotrienolu i γ -tokotrienolu oraz nieprawidłowym profilem związków lipidowych w osoczu krwi, a w konsekwencji z gorszym zdrowiem metabolicznym; **H2:** Nadmierna zawartość tkanki tłuszczowej jest związana z wyższym stanem zapalnym, mierzonym stężeniem białka CRP, a wyższe stężenie izoform witaminy E w osoczu związane jest z jego obniżeniem; **H3:** Niedostateczne spożycie witaminy E częściej występuje u mężczyzn, osób powyżej 40 roku życia oraz osób z nadmierną masą ciała”.

Wymienione hipotezy weryfikowano poprzez odpowiednio dobrane metody badawcze, dobrze zaplanowane i konsekwentnie realizowane badania oraz wyczerpującą interpretację wyników. Analizę związku między zawartością tkanki tłuszczowej, profilem lipidowym krwi, stanem zapalnym a witaminą E i jej izoformami przeprowadzono, wykonując dwa badania, których przebieg w sposób syntetyczny, a równocześnie obrazowy i jasny przedstawiono w postaci schematu (Ryc. 1).

W badaniu pierwszym, którego wyniki opisano w publikacji nr 2, wzięło udział 127 dorosłych osób po zastosowaniu odpowiednich kryteriów włączania i wyłączenia. Grupę badaną stanowiły osoby z nadmierną zawartością tkanki tłuszczowej (wartości powyżej 30% masy ciała dla kobiet oraz 25% masy ciała dla mężczyzn), natomiast osoby z prawidłową – grupę kontrolną.

Wykonano pomiary antropometryczne, zgodnie z odpowiednimi wytycznymi, przy użyciu profesjonalnego sprzętu z zachowaniem standardowych procedur, takie jak: wysokość ciała (H), masa ciała (BW), obwód talii (WC) i obwód bioder (HC). Następnie obliczono wskaźnik masy ciała (BMI), wskaźnik talia-biodra (WHR) oraz wskaźnik talia-wzrost (WHtR), a uzyskane dane odniesiono do wartości referencyjnych.

Skład ciała, w tym zawartość tkanki tłuszczowej (FM), oceniano przy użyciu bioimpedancji elektrycznej (BIA), z wykorzystaniem wieloczęstotliwościowego ośmiopunktowego analizatora Tanita (Tanita BC-418 MA, Tanita Co., Tokio, Japonia). Pomiary wykonywano w standaryzowanych warunkach, zgodnie z protokołem producenta.

Podstawowe badania biochemiczne krwi (tj. lipidogram, stężenie białka CRP) wykonano w certyfikowanym laboratorium diagnostycznym, z zastosowaniem standardowych metod, zgodnie z procedurą obowiązującą w danej placówce.

W osoczu krwi wykonano analizy 4 tokochromanoli, tj. α - tokoferolu, γ - tokoferolu, α - tokotrienolu oraz γ - tokotrienolu, metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) połączonej z detektorem DAD. Stan odżywienia wit. E oceniono, odnosząc uzyskane wyniki do wartości referencyjnych.

Identyfikację kwasów tłuszczowych, również w osoczu krwi, przeprowadzono na podstawie wartości czasu retencji w porównaniu ze standardem (Supelco 37 Component FAME Mix) oraz obliczono procentowy ich udział na podstawie powierzchni pików chromatograficznych.

Obliczając stosunek względnej zawartości produktów do ich odpowiednich prekursorów, oszacowano aktywność czterech enzymów zaangażowanych w metabolizm lipidów, tj. *stearoyl-CoA desaturazy* (SCD), $\Delta 6$ -*desaturazy* (D6D), $\Delta 5$ -*desaturazy* (D5D) oraz *elongazy*.

W drugim badaniu oceniono kwestionariusze spożycia, przygotowane przez 447 respondentów, po wcześniejszym wyeliminowaniu 57, ze względu na niespełnienie wymaganych kryteriów. Wyniki uzyskane w tym badaniu opisano w publikacji nr 3.

Badanie to prowadzono przez okres 12 miesięcy. W tym czasie uczestnicy przez 6 miesięcy wypełniali autorski, półilościowy kwestionariusz częstotliwości spożycia produktów spożywczych, nośników wit. E (VitE-FFQ). Bezpośrednio po wypełnieniu FFQ wykonywali 1-dniowy zapis żywieniowy. Co istotne, ponieważ polskie „Tabele składu i wartości odżywczej żywności” (Kunachowicz i wsp., 2020) podają jedynie zawartość witaminy E, wyrażoną jako równoważnik α - tokoferolu, do obliczenia poszczególnych tokoferoli i tokotrienoli wykorzystano bazę danych Departamentu Rolnictwa Stanów Zjednoczonych (U.S. Department of Agriculture; USDA). Kalkulator do obliczania zawartości tokoferoli i tokotrienoli (Vit_E.CAL), uwzględniający zarówno poszczególne izoformy witaminy E, jak również ich sumę, wyrażoną jako mg równoważnika α - tokoferolu, opracowano w programie MS Excel.

Uczestnicy badania dodatkowo podawali podstawowe dane socjodemograficzne, takie jak: wiek, wykształcenie, miejsce zamieszkania oraz dane antropometryczne, czyli aktualną wysokość i masę ciała, na podstawie których obliczano wskaźnik BMI. Do pozyskiwania tych danych wykorzystano technikę wywiadu internetowego wspomaganego komputerowo (CAWI).

Wykonując ocenę adekwatności spożycia w grupie, jako dostateczne spożycie przyjęto wartości równe lub wyższe w odniesieniu do obowiązujących norm (AI), a następnie obliczono odsetek osób, u których spożycie było dostateczne.

Uzyskane w obydwu badaniach liczne wyniki, opracowane w oparciu o metody analizy statystycznej, pozwoliły na zrealizowanie celów częściowych oraz zweryfikowanie wszystkich wymienionych powyżej hipotez badawczych.

W osoczu krwi osób z nadmierną zawartością tkanki tłuszczowej oraz otyłością androidalną wykazano istotnie niższe stężenie wszystkich analizowanych izoform witaminy E, a także nieprawidłowy profil lipidowy (niskie stężenie lipoprotein o wysokiej gęstości HDL, podwyższone stężenie triacylogliceroli, jak również zaburzony profil kwasów tłuszczowych). U osób z otyłością stwierdzono wyższy udział kwasów tłuszczowych jednonienasyconych (MUFA) i n-3, natomiast u osób z prawidłową zawartością tkanki tłuszczowej w organizmie wyższy udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), szczególnie n-6. Ponadto u osób z nadmierną zawartością tkanki tłuszczowej wykazano podwyższoną aktywność niektórych enzymów metabolizmu kwasów tłuszczowych, czyli enzymu zaangażowanego w syntezę czynników prozapalnych $\Delta 6$ -*desaturazy*, *stearoyl-CoA desaturazy-16* (D6D) lub modyfikującego profil lipidowy *stearoyl-CoA desaturazy-18* (SCD). Można zatem stwierdzić, że hipoteza 1 została potwierdzona.

Wykazano też, że nadmierna zawartość tkanki tłuszczowej była powiązana z wyższym stanem zapalnym, mierzonym stężeniem we krwi białka ostrej fazy (CRP). Natomiast ocena zależności pomiędzy stężeniem tokochromanoli i ich wpływem na natężenie stanu zapalnego nie została na obecnym etapie badań potwierdzona. W związku z powyższym Doktorant wskazuje na konieczność kontynuacji tych badań. Uzyskane wyniki zatem częściowo potwierdziły hipotezę 2.

Dostateczne spożycie witaminy E dotyczyło jedynie 52% osób badanych. Mężczyźni oraz osoby powyżej 40. roku życia charakteryzowały się częściej niedostatecznym spożyciem wit. E. Ponadto nie wykazano istotnych zależności między spożyciem tej witaminy a stwierdzoną nadmierną masą ciała. Uzyskane wyniki częściowo potwierdziły hipotezę 3. Jak podkreśla Doktorant, potrzebne są dalsze badania nad oceną zależności pomiędzy stężeniem tokochromanoli a zawartością tkanki tłuszczowej i masą ciała osób dorosłych.

W związku z częściowym potwierdzeniem hipotezy nr 2 i 3 nasuwa się pytanie. Czy bardziej kompleksowa ocena obrony antyoksydacyjnej organizmu, poprzez analizę wysycenia organizmu zarówno witaminą E, jak i przeciwutleniaczami regenerującymi utlenioną witaminę, mogłaby posłużyć wyjaśnieniu ocenianych zależności? W jaki sposób i poprzez jakie antyoksydanty odbywa się przywracanie zredukowanej formy wit. E, czyli możliwości ponownego, antyoksydacyjnego jej działania?

Doktorant w dysertacji z pełną świadomością opisuje mocne i słabe strony badania, przedstawiając tym samym w pełni krytyczne podejście zarówno do warunków realizacji, jak i oceny uzyskanych wyników.

Na podstawie uzyskanych wyników badań, służących weryfikacji hipotez badawczych, sformułowane zostały bardzo istotne wnioski.

Podkreślono w nich m.in., że:

- nadmierna zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie może wpływać na niższe stężenie poszczególnych izoform witaminy E we krwi, a tym samym na obniżoną obronę antyoksydacyjną organizmu,
- zwiększenie spożycia witaminy E, zwłaszcza przez mężczyzn i osoby po 40 roku życia, poprzez odpowiedni w diecie dobór produktów, stanowiących nośniki poszczególnych izoform tej witaminy, może stanowić kluczowy element profilaktyki zdrowia i dietoterapii chorób kardiometabolicznych.

P o d s u m o w a n i e

W ramach niniejszej rozprawy doktorskiej przeprowadzono bardzo obszerne badania przy pomocy właściwie dobranych metod, a prawidłowa interpretacja wyników pozwoliła na zweryfikowanie hipotez badawczych oraz sformułowanie ważnych wniosków, stanowiących uzupełnienie brakujących lub kontrowersyjnych danych, zamieszczonych w literaturze przedmiotu.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr. Kacpra Aleksandra Szewczyka wnosi nowe, ważne elementy do wiedzy z zakresu dyscypliny nauki o zdrowiu. Problem badawczy rozpracowany w ramach niniejszej pracy doktorskiej ma duże znaczenie, zarówno w wymiarze poznawczym jak i aplikacyjnym, co podkreślono również we wnioskach, bowiem opracowany kwestionariusz oraz kalkulator do oceny spożycia witaminy E i poszczególnych jej izoform może być wykorzystany w dalszych badaniach do oceny zależności między spożyciem a ich stężeniem we krwi, w kontekście również innych niezakaźnych chorób przewlekłych.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska mgr. Kacpra Aleksandra Szewczyka pt. „Tkanka tłuszczowa a zawartość wybranych związków lipidowych i lipofilnych w osoczu krwi osób dorosłych”, zrealizowana pod kierunkiem Pani dr hab. Magdaleny Górnickiej, prof. SGGW, w pełni odpowiada wymogom, wyszczególnionym w Ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, art. 187 (Dz.U. 2018, poz. 1668, z późn. zm.).

Mgr Kacper Aleksander Szewczyk wykazał się bardzo dobrym przygotowaniem i znajomością tematu, popartą przedstawionym, obszernym przeglądem literatury. Zaprezentował oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Aktywność Doktoranta i przeważający udział w realizacji tematu, poświadczony przez współwykonawców, a wypunktowany powyżej, dowodzi umiejętności nie tylko samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, ale też pracy w zespole. Doktorant wykazał się umiejętnością organizacji badań, opanowania szerokiego warsztatu badawczego oraz właściwej interpretacji i opisywania wyników.

W związku z powyższym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pana mgr. Kacpra Aleksandra Szewczyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Kraków, 12.05.2025 r.