Gdańsk, 02 maj 2023r

Prof. dr hab. Rafał Olszanecki
Przewodniczący Rady Dyscypliny
Nauki Medyczne UJ
Uniwersytet Jagielloński –
Collegium Medicum

RECENZJA rozprawy na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne
Mgr Małgorzaty Augustyniak
„Selenium as an element of dietary habits in the etiology and clinical consequences of colorectal cancer" („Selen jako element zwyczajów żywieniowych w etiologii i następstwach klinicznych raka jelita grubego")

Promotor:
Dr hab. med. Aleksander Gałaś
Katedra Epidemiologii i Medycyny Zapobiegawczej
Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum

Recenzja została sporządzona na zlecenie Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum prof. dr hab. Rafała Olszaneckiego zgodnie z pismem 503.5100.61.2019 z dnia 2 marca 2023 roku.

Trafność wyboru tematu

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a, 80-210 Gdańsk | +48 58 349 11 11 | info@gumed.edu.pl

Tematem rozprawy doktorskiej są związki między spożyciem selenu w diecie a ryzykiem raka jelita grubego. Zagadnienie uwarunkowań dietetycznych zachorowań na raka jelita grubego jest istotnym problemem zdrowia publicznego i praktyki klinicznej w zakresie onkologii. Rak jelita grubego w skali globalnej jest trzecim najczęściej rozpoznawanym nowotworem u mężczyzn i drugim u kobiet. Szukanie zależności pomiędzy sposobem żywienia a nowotworami przewodu pokarmowego jest jednym z podstawowych zagadnień tzw. epidemiologii żywieniowej. **Dlatego też uważam temat pracy za ważny i potrzebny - jest on trafnie dobrany i epidemiologicznie uzasadniony.**

Ocena formalna i edytorska

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska jest skonstruowana w typowy sposób i została przygotowana zgodnie z dobrą praktyka w tym zakresie: w formacie A4, oprawiona w twarde okładki, obejmuje 64 numerowane strony i zawiera oprócz publikacji składających się na dysertację: wykaz osiągnięcia naukowego, wstęp, cele pracy, opis grupy badanej i metodyki, wyniki i wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo oraz oświadczenia współautorów.
Trzon rozprawy stanowią 3 spójne tematycznie publikacje, z których 2 ukazały się w czasopismach znajdujących się w zestawieniu Journal Citation Reports i miały łączny wskaźnik Impact factor 2,917 i 160 punktów MEN:

1. Małgorzata Augustyniak. Selenium and cancer or adenoma related to the large bowel Postepy Hig Med Dosw 2021; 75 : 426-436. DOI: 10.5604/01.3001.0014.9364 (IF 0,357, MEN: 40)
2. Augustyniak M, Galas A. Calcium intake may explain the reduction of colorectal cancer odds by dietary selenium - a case-control study in Poland. BMC Nutr. 2022 Mar 14;8(1):22. doi: 10.1186/s40795-022-00515-w. PMID: 35287753; PMCID: PMC8919630 (IF:- ; MEN: 20)
3. Augustyniak M, Galas A. Selenium dietary intake and survival among CRC patients. Int J Vitam Nutr Res. 2022 Sep 30. doi: 10.1024/0300-9831/a000768. Epub ahead of print. PMID: 36176217. (IF:2,560 ; MEN: 100)

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a, 80-210 Gdańsk | +48 58 349 11 11 | info@gumed.edu.pl

We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem a oświadczenia współautorów zawierają informacje na temat deklarowanego wkładu w powstanie prac, co pozwala **przyjąć, że wkład Doktorantki był dominujący i kluczowy dla powstania w/w prac a ich wartość publikacyjna mierzona wskaźnikami IF i punktacją MEN spełnia kryteria dla cyklu prac jako elementu rozprawy doktorskiej.**

Ocena merytoryczna pracy

W poniżej zaprezentowanych uwagach Recenzent wskazał te elementy projektu badawczego lub samego tekstu prac, które odnoszą się do wyrażanych przez niego wątpliwości co adekwatności użytej metodologii lub sposobu interpretacji danych lub są podstawą pytań do Autorki z prośbą o odniesienie się do nich w czasie obrony.

Prace składające się na trzon rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w czasopismach recenzowanych, Są spójne tematycznie - wszystkie dotyczą związków między preferencjami żywieniowymi lub stanem odżywienia a ryzykiem raka jelita grubego.

Cel pracy został sformułowany w rozprawie będącej omówieniem przedsięwzięcia naukowego następująco: „wykonanie systematycznego przeglądu wiedzy na temat związku między selenem a rakiem lub gruczolakiem jelita grubego; estymacja ryzyka rozwoju nowotworu w zależności od spożywanej ilości selenu; sprawdzenie czy wapń może modyfikować działanie selenu u pacjentów z rakiem jelita grubego oraz weryfikacja czy określony zachowaniami żywieniowymi „status selenowy" pacjentów może być związany z efektami leczenia chorych na raka jelita grubego".

Publikacja nr 1 jest artykułem przeglądowym będącym niesystematycznym, narracyjnym (?) przeglądem literatury wykonanym na podstawie przeszukania bazy PubMed, opublikowanej w języku angielskim i będącym próbą podsumowania aktualnego stanu wiedzy na temat związku pomiędzy zawartością selenu w diecie a rakiem i

gruczolakorakiem jelita grubego. Tytuł artykułu nie zawiera w sobie informacji o tym, że jest to artykuł przeglądowy. Być może można jednak uznać, że zalecenia wynikające ze stanowiska PRISMA dotyczące standardu raportowania wyników przeglądów literatury nie mają w tym miejscu zastosowania właśnie z tej przyczyny, ze artykuł nie jest przeglądem systematycznym (Page M J, McKenzie J E, Bossuyt P M, Boutron I, Hoffmann T C, Mulrow C D et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews BMJ 2021; 372 :n71 doi:10.1136/bmj.n71). Wyraźne stwierdzenie dotyczącego tego, że artykuł nie jest przeglądem systematycznym pada dopiero w dyskusji w części dotyczącej ograniczeń badania. Zwraca uwagę fakt, że przegląd został przeprowadzony przez pojedynczego autora, co zwykle w przypadku przeglądu systematycznego jest swego rodzaju uchybieniem związanym z możliwością niewyodrębnienia wszystkich istotnych publikacji w analizowanym zagadnieniu. Mimo zadeklarowanego niesystematycznego charakteru przeglądu zakres haseł użytych do wyszukiwania publikacji pokazuje jak obszernej tematyki dotyczy publikacja. Widać to w poniższym zacytowaniu zestawu haseł wyszukiwania zaczerpniętym z pracy nr 1:

"selenium and colorectal cancer", "selenium supplementation and colon cancer risk", "selenium supplementation and rectal cancer risk", "selenium and serum and colon cancer risk", "selenium status and blood and cancer", "selenium and soil", "selenium and soil and Poland", "selenium*","colorectal cancer*", "selenium or colorectal cancer".

Zakres tak zdefiniowanego przeglądu pokazuje, że publikacja nie podejmuje się wyszukania badań oceniających związek między selenem a ryzykiem raka jelita grubego opisanym w bardziej doprecyzowany sposób tj. zapadalnością lub umieralnością z powodu raka jelita grubego, ponieważ jest brak haseł „incidence" („zapadalność") i „mortality" („umieralność"). Nie można wykluczyć, że istnieją badania, których nie odnaleziono w związku z taką strategia wyszukiwania. Włączenie do przeglądu badań kliniczno-kontrolnych („case-control") jest pewnego rodzaju uzasadnieniem takiego braku. Jednak mimo to Doktorantka omawia w osobnej sekcji badania dotyczące współczynników umieralności i chorobowości („morbidity/mortality rates"). Strategia wyszukiwania została zaprezentowana graficznie przy pomocy diagramu („flow diagram") jak w przeglądzie systematycznym. Doktorantka prezentuje wyniki badań przy pomocy wykresu „forest plot", ale bez uśrednionego wyniku dla grupy badań obserwacyjnych odnośnie ilorazu szans czy wskaźnika ryzyka dla badań interwencyjnych, co może być zrozumiałe o tyle, że jest to przegląd bez meta-analizy. Jednocześnie Doktorantka dokonuje starannej analizy jakości wyodrębnionych badań w skali

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a, 80-210 Gdańsk | +48 58 349 11 11 | info@gumed.edu.pl

„Jadad" dla badań eksperymentalnych oraz w skali „New Castle Ottawa" dla badań obserwacyjnych. Doktorantka dokonuje zatem próby zhierarchizowania dowodów pochodzących ze zidentyfikowanych badań i wskazania wagi poszczególnych badań, a w szczególności tych pochodzących z badań eksperymentalnych. Wyniki badań eksperymentalnych są mało jednorodne jak pokazuje to wykres „forest plot", choć znowu brakuje statystycznej oceny tej niejednorodności („heterogeneity") i bardziej szczegółowego odniesienia się do możliwych przyczyn takiego zróżnicowania przede wszystkim w zakresie badań eksperymentalnych. Doktorantka czyni jednak taką próbę w części poświęconej dyskusji wyjaśniając negatywne wyniki badania klinicznego SELECT wysokim poziomem selenu u części uczestników zaobserwowanym na początku badania. Z kolei wybrane cechy badań obserwacyjnych odnośnie wielkości próby i charakterystyk uczestników zostały dość szeroko przedstawione w osobnej tabeli. Praca 3 stwarza zatem pod wieloma względami wrażenie przeglądu systematycznego choć nim nie jest. Jednak sama w sobie jest pokazuje umiejętności Doktorantki w zakresie rozpoznawania wagi poszczególnych badań dla formułowania wniosków i rozumienia uwarunkowań metodologicznych takiej oceny.

Publikacje 2 i 3 są oryginalnymi doniesieniami powstałymi w oparciu o badanie kliniczno-kontrolne realizowane w Katedrze Epidemiologii i Medycyny Zapobiegawczej UJ CM w latach 2000-2012. W pracy nr 2 w schemacie badania kliniczno-kontrolnego badano powiązanie między obecnością selenu w diecie a diagnozą raka jelita grubego u kierowanych do zabiegu operacyjnego 683 osób i 759 pacjentów hospitalizowanych z innych powodów w Klinice Chorób Wewnętrznych. Praca nr 3 powstała po ustaleniu statusu przeżywalności uczestników wspomnianego badania kliniczno-kontrolnego z grupy osób z rozpoznaniem raka jelita grubego. Ocena metodologii badań z obu publikacji została potraktowana łącznie.

Doktorantka zamieściła informację o uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego (IRB nr 1072.6120.347.2020). Oświadczenie współautora zawarte w rozprawie pokazuje jego udział w powstaniu prac 2 i 3. Recenzent w ocenie tych dwóch publikacji wspomagał się listą kontrolną specyficzną dla badań z zakresu epidemiologii żywieniowej - STROBE-nut (Lachat C et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology - Nutritional Epidemiology (STROBE-nut): An Extension of the STROBE Statement. PLoS Med 13(6)

http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1002036), która jest zalecana do raportowania tego typu badań.

W artykule nr 2 Doktorantka zbadała zależność między zwyczajami żywieniowymi a ryzykiem raka jelita grubego. Do pomiaru zwyczajów żywieniowych użyto zwalidowanego kwestionariusza ilości i częstości spożywanych pokarmów znanego z projektu EPIC-Potsdam (The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition). Wyniki analizy wskazywały na istnienie takiego związku: w modelu wieloczynnikowym uwzględniającym takie dane jak wiek, płeć, BMI, spożycie alkoholu, palenie papierosów, aktywność fizyczna, spożycie ryb, błonnika pokarmowego, witaminy C i E, stosowanie suplementów i spożycie wapnia, wzrost spożycia selenu o każde 10 μg/dzień był związany ze spadkiem ryzyka jelita grubego o 8% (OR=0,92; 95% CI 0,84-0,99). Pozytywne wyniki dla takiej zależności stwierdzono również w ocenie różnych kategorii spożycia selenu (≥80 μg/dzień vs <60 μg/dzień OR=0,42; 95% CI 0,25-0,71). Stwierdzono również modyfikujący wpływ wapnia w zakresie siły związku pomiędzy selenem a ryzykiem raka: w grupie niższego spożycia wapnia rola selenu była mniejsza niż w grupach większego spożycia a efekt ten był statystycznie istotny. Opisano możliwe biologiczne uwarunkowania roli wapnia dla modyfikacji efektu selenu w zakresie ryzyka raka. Sposób przeprowadzenia analiz oraz dyskusji pokazuje techniczną sprawność Doktorantki w zakresie poruszania się po zaawansowanych tematach epidemiologii żywieniowej i jej metodologicznych uwarunkowaniach. Recenzent chciałby jedynie zwrócić uwagę na brak wykształcenia oraz statusu społeczno-ekonomicznego w modelu wieloczynnikowym oceniającym powiązanie spożycia selenu z ryzykiem raka jelita grubego. Jak wiadomo bowiem, wykształcenie i pozycja społeczno-ekonomiczna są silnymi czynnikami ryzyka onkologicznego a także w sposób istotny determinują rodzaj stosowanej diety.

W artykule nr 3 w oparciu o analizę przeżycia w modelu hazardu Coxa uwzględniającym takie dane jak wiek, płeć, BMI, palenie papierosów, wykształcenie, choroby układu krążenia, zaburzenia gospodarki węglowodanowej, spożycie białka, podaż energii, witaminy C i E, alkoholu, warzyw i owoców, używanie suplementów, stadium guza, rodzaj leczenia wykazano, że osoby w grupie o wyższym spożyciu selenu (≥48,8 μg/dzień)

miłay o 27% niższe ryzyko zgonu z powodu raka jelita grubego w porównaniu do osób o niższym spożyciu selenu (<48,8 µg/dzień): HR=0,73 95% CI: 0,54-0,98. Doktorantka znów również w tej pracy wykazała się znajomością swoistych dla badań kohortowych metod statystycznych oraz trafnością ocen w zakresie ograniczeń badania i zgodności z wynikami z innych badań. Wskazuje na możliwość błędu pamięci przy zastosowaniu określonej metody pomiaru diety a także błędu klasyfikacji w odniesieniu do zawartości selenu w diecie wynikającym z braku bezpośrednich danych o zawartości selenu w materiale biologicznym lub w glebie. W badaniu przeprowadzono szereg analiz wrażliwości odnosząc się do możliwości odwrotnej przyczynowości. Wnioski zostały sformułowane w sposób zachowawczy wskazując na ograniczone możliwości ich uogólniania ze względu na niska zawartość selenu w diecie Polaków.

Uwagi i pytania do Doktorantki:

Czy Doktorantka uważa, że istnieje uzasadnienie dla prowadzenia innych badań niż eksperymentalne w zakresie ustalenia roli selenu w prewencji wtórnej i pierwotnej raka jelita grubego?

Jak dobór i rekrutacja uczestników badania kliniczno-kontrolnego dotyczącego związków żywienia ze stanem zdrowia prowadzona w szpitalu może wpłynąć na błąd selekcji? Czy osoby z grupy kontrolnej hospitalizowane z przyczyn innych niż rak jelita grubego mogły również chorować z powodu niskiej jakości diety o niskiej zawartości selenu?

Jak weryfikowano przyczynę zgonu w badaniu kohortowym? Czy sposób weryfikacji mógł wpłynąć na błąd klasyfikacji? Czy w analizie umieralności ogólnej rola selenu była inna niż w analizie umieralności z powodu raka jelita grubego? Jaka była moc statystyczna badania dotycząca analizy hazardu Coxa?

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a, 80-210 Gdańsk | +48 58 349 11 11 | info@gumed.edu.pl

Podsumowanie

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Augystyniak dotyczy ciekawego z punktu widzenia epidemiologii żywieniowej tematu i stanowi istotny wkład do dziedziny wiedzy w zakresie nauk o zdrowiu. Należy podkreślić fakt, że Doktorantka wykazała się umiejętnością formułowania jasno określonych celów pracy oraz doboru adekwatnych metod w obrębie danego schematu badawczego, doboru uczestników badania, pomiaru narażenia i efektów zdrowotnych a także wykazała się umiejętnością praktycznej realizacji badania, jego analizy, interpretacji wyników i wnioskowania, zestawienia wyników w kontekście aktualnej literatury naukowej, rozumienia ograniczeń własnego projektu badawczego i wreszcie zdolnością do opublikowania wyników w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Przedstawione do oceny prace naukowe będące trzonem rozprawy doktorskiej stanowią oryginalne rozwiązanie problemu badawczego. Uwagi sformułowane przez Recenzenta nie umniejszają wartości merytorycznej i naukowej pracy. Są przyczynkiem do dyskusji i uzyskania pełniejszego obrazu opisywanego zjawiska.

Uważam, że **rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668),** dlatego mam zaszczyt zwrócić się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego z wnioskiem o przyjęcie rozprawy pt. **„Selenium as an element of dietary habits in the etiology and clinical consequences of colorectal cancer" („Selen jako element zwyczajów żywieniowych w etiologii i następstwach klinicznych raka jelita grubego")"** jako rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr Małgorzaty Augystyniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zakład Higieny i Epidemiologii
prof. dr hab. n. med. Paweł Zagożdżon
Kierownik

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a, 80-210 Gdańsk | +48 58 349 11 11 | info@gumed.edu.pl