



RECENZJA

rozprawy doktorskiej **Ahsana Hameeda** pt

„Application of metabolomics to understand the metabolic response evoked by the intake of high-carbohydrate or low-carbohydrate meal with cinnamon and capsicum by people at risk of type 2 diabetes development”

Promotor: prof. dr hab. Michał Ciborowski,

Współpromotor: prof. dr hab. Edyta Adamska-Putruno

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska to cykl trzech publikacji tematycznych, praca oryginalna oraz dwie prace poglądowe. Wszystkie artykuły zostały opublikowane w czasopismach z bazy Journal Citation Report. Doktorant jest pierwszym autorem wszystkich publikacji i jego wkład w każdą publikację jest znaczący. Sumaryczny IF artykułów wchodzących w skład rozprawy doktorskiej to 18,1 i 420 punktów Ministerstwa Nauki i Edukacji. Wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej zostały zaprezentowane na trzech konferencjach naukowych. Prace eksperymentalne prowadzono w trzech ośrodkach Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku w Polsce (Laboratorium Metabolomiki, Katedra Nutrimiki i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych) oraz w jednym ośrodku CEU San Pablo w Hiszpanii (Centre of Metabolomics and Bioanalysis (CEMBIO)). Wszystkie artykuły zostały sfinansowane z grantów z programu Unii Europejskiej Horyzont 2020 (nr 754432) oraz Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Dane epidemiologiczne wskazują, że zaburzenia metaboliczne, takie jak nadwaga (OW), otyłość (OB) i stan przedcukrzycowy, są jednymi z najczęstszych problemów zdrowotnych współczesnych społeczeństw. A jeśli pozostają nieleczone, prowadzą do rozwoju poważnych chorób, nie tylko znacznie obniżających jakość życia, ale także stanowiących bezpośrednie zagrożenie dla życia. Pomimo rosnącej wiedzy i świadomości na temat patogenezy zaburzeń metabolicznych, trudno powstrzymać tę epidemię. Wśród wielu czynników przyczyniających się do rozwoju zaburzeń metabolicznych kluczową rolę odgrywają nawyki żywieniowe. Dlatego praca doktorska miała na celu ocenę odpowiedzi mężczyzn OB/OW w porównaniu z mężczyznami o prawidłowej masie ciała (NW) na posiłek wysokowęglowodanowy (HC) i niskowęglowodanowy (LC) oraz wybraną „żywność

funkcjonalną” poprzez identyfikację i pomiar ilości metabolitów w osoczu. Na czczo oraz 30, 60, 120 i 180 minut po posiłku pobierano próbki krwi, z których następnie izolowano osocze. Zostało one dalej analizowane technologią „OMICS”, która obejmuje metabolomikę połączoną z analizą statystyczną i bioinformatyczną. Badanie przeprowadzono w dwóch etapach obejmujących dwa oddzielne badania kliniczne, szczegółowo opisane w artykule # 3. Oba badania kliniczne zostały zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

W pierwszym badaniu sprawdzono, czy profil metabolitów w osoczu po posiłku HC i LC różni się między mężczyznami z OB/OW i NW. Uzyskane wyniki wykazały zmiany poziomu po posiłku HC blisko 40 metabolitów, z czego 17 było istotnych statystycznie pomiędzy mężczyznami z OB/OW a NW. Metabolity te należą do fosfolipidów, sfingolipidów, amidów kwasów tłuszczowych i aminokwasów rozgałęzionych. Powiązania tych metabolitów z hiperglikemią, dyslipidemią i stanem zapalnym zostały obszernie omówione w pracy przeglądowej #1. Zwrócono uwagę na ich potencjał diagnostyczny w predykcji cukrzycy typu 2.

W drugim badaniu sprawdzono, czy spożycie cynamonu/ostrej papryki wpływa na zmiany profilu metabolitów wywołane posiłkiem HC w porównaniu z placebo w osoczu mężczyzn z OB/OW. Stwierdzono, że stężenie wybranych zmienionych metabolitów indukowane posiłkiem HC zostało znormalizowane po podaniu badanych przypraw. Uzyskane wyniki potwierdzają zatem tezę, że „żywność funkcjonalna”, taka jak cynamon i ostra papryka, poprawia osoczowe markery metabolizmu glukozy i lipidów związane z otyłością i stanem zapalnym. Wpływ licznych substancji obecnych w owocach typu jagody, kolejnym przykładzie „żywności funkcjonalnej”, na profil metabolitów osocza i ich działanie ochronne przed cukrzycą i jej powikłaniami, zostało szeroko opisane w przeglądzie #2.

Komentarze i pytania

1. W pierwszym badaniu uczestnicy otrzymywali posiłek HC lub LC w celu identyfikacji zmian w poposiłkowym profilu metabolitów u pacjentów z OB/OW w porównaniu z uczestnikami NW. Zawartość procentową białka (11%), tłuszczu (0%) i węglowodanów (89%) w posiłkach HC i LC (białko 30%, tłuszcz 25%, węglowodany 45%) podał producent Nutridrink. Zarówno posiłki HC, jak i LC miały prawie równy odsetek cukrów prostych i polisacharydów. Czy zmiany w profilu metabolitów poposiłkowych między uczestnikami OB/OW a uczestnikami NW mogą być spowodowane różną zawartością tłuszczu i białka w posiłku HC i LC, innymi słowy, w jakim stopniu zawartość tłuszczu i białka w posiłku HC i NC może wpływać na poposiłkowy profilu metabolitów w osoczu uczestników OB/OW i NW.

Mono- i di-sacharydy to cukry proste i nie zaleca się ich stosowania pacjentom z zaburzeniami metabolicznymi, takimi jak OB/OW lub stan przedcukrzycowy. Z kolei, polisacharydy, jako rodzaj „żywności funkcjonalnej”, mają pożądany wpływ na metabolizm i są zalecane dla pacjentów z OB/OW i cukrzycą. Jakich zmian w profilu metabolitów poposiłkowych spodziewałbyś się po posiłku HC bogatym w polisacharydy (bez cukrów prostych) w porównaniu z posiłkiem HC bogatym w cukry proste u osób OB/OW? A jakich zmian w profilu metabolitów poposiłkowych można się spodziewać po posiłku LC bogatym w polisacharydy (bez cukrów prostych) w porównaniu z posiłkiem LC bogatym w cukry proste u uczestników OB/OW?

2. Stwierdzono istotne różnice w poposiłkowym profilu metabolitów w odpowiedzi na posiłek HC u mężczyzn OB/OW w porównaniu z mężczyznami z NW. Jakie jest kliniczne i praktyczne znaczenie tego odkrycia, np. zalecenia dietetyczne, wartość diagnostyczna konkretnego metabolitu lub inne.

3. Jakie substancje chemiczne, aktywne biologicznie znajdują się w cynamonie, który podano uczestnikom OB/OW drugiego badania? Czy mógłbyś wyjaśnić, w jaki sposób aktywne związki cynamonu wpływają na sygnalizację komórkową i szlaki metaboliczne, prowadząc do poprawy kontroli glikemii w cukrzycy, lipidów w dyslipidemii i redukcji cytokin prozapalnych.

4. Na podstawie wyników pierwszego i drugiego badania, co poleciłbyś osobom z OB/OW: ograniczenie spożycia wszystkich rodzajów węglowodanów, czy ograniczenie spożycia cukrów prostych, czy podanie cynamonu, ostrej papryki lub innej „żywności funkcjonalnej” wraz z posiłkami HC, w celu poprawy metabolizmu i zmniejszenia progresji zaburzeń metabolicznych oraz zmniejszenia ryzyka rozwoju cukrzycy?

Wnioski

Powyższe uwagi i sugestie nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej Pana Ahsana Hameeda i mojej pozytywnej opinii. Rozprawa doktorska przedstawia ogólną wiedzę teoretyczną Doktoranta w dyscyplinie oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Recenzowana rozprawa doktorska zawiera elementy nowości naukowej osiągniętej dzięki zastosowaniu odpowiednich metod badawczych. Cele pracy zostały osiągnięte, a wyniki opublikowano w czasopiśmie z listy JCR o wysokim IF. Publikacje zostały poddane rygorystycznej ocenie recenzentów zagranicznych i uznane za wartościowe. Tym samym rozprawa doktorska Pana Ahsana

Hameeda, będąca obszernym i umiejętnym podejściem do problemu, spełnia wszystkie wymogi o uzyskanie stopnia doktora zawarte w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574 ze zm.). Pragnę podkreślić, że Doktorant oprócz prac związanych z rozprawą doktorską jest współautorem 19 innych publikacji o łącznej IF 64,61 i 1166 pkt Ministerstwa Nauki i Edukacji.

Mając na uwadze koncepcję badawczą oraz wartość poznawczą jaką wnoszą wyniki, składam do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie Ahsana Hameeda do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zakład Neurofizjologii i Neuroinżynierii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Śliwińska
dr hab. n. med. Agnieszka Śliwińska

Agnieszki Śliwińskiej



Medical University of Lodz
Chair of Clinical and Laboratory Genetics
Department of Nucleic Acids Biochemistry

Pomorska 251, 92-213 Lodz;
tel. + 48 42 272 5354;
e-mail: agnieszka.sliwinska@umed.lodz.pl



REVIEW

Of the PhD thesis by **Ahsan Hameed**, entitled

“Application of metabolomics to understand the metabolic response evoked by the intake of high-carbohydrate or low-carbohydrate meal with cinnamon and capsicum by people at risk of type 2 diabetes development”

Supervisor: Michał Ciborowski, PhD, Associate Professor

Co-supervisor: Edyta Adamska-Putruno, PhD, Associate Professor

The PhD dissertation submitted to me for evaluation is a series of three thematic publications, including an original paper and two review papers. All papers have been published in journals from the Journal Citation Report database. The PhD student is the first author of all publications and his contribution to each of publication is significant. The summary score of the papers included in the doctoral dissertation is 18.1 (total Impact Factor) and 420 points of the Ministry of Science and Education. The results presented in the PhD thesis were presented on three scientific conferences. Experimental works were performed at three centers of Medical University of Białystok in Poland (Metabolomics Laboratory, Department of Nutriomics, and Department of Endocrinology, Diabetology and Internal Medicine) and one center from CEU San Pablo in Spain (Center of Metabolomics and Bioanalysis (CEMPIO)). All papers were supported by the grants from the European Union's Horizon 2020 (no. 754432) and from the Polish Ministry of Science and Higher Education.

Epidemiological data indicate that metabolic disorders such as overweight (OW), obesity (OB) and prediabetes are one of the most common health problems in modern societies. And if they remain untreated, they lead to the development of serious diseases, not only significantly reducing the quality of life, but also posing a direct threat to life. Despite the growing knowledge and awareness of the pathogenesis of metabolic disorders, it is difficult to stop this epidemic. Among numerous factors contributing to

the development of metabolic disorders, eating habits play a key role. Thus, the PhD thesis aimed to assess the response of OB/OW men in comparison to NW men to high carbohydrate (HC) and low carbohydrate (LC) meal and selected "functional food" by the identification and measurement of metabolites in plasma. Fasting and 30, 60, 120, and 180 minutes after a meal blood samples were collected, next they were used to prepare plasma samples. They were further processed by "OMICS" technology that involves metabolomics coupled with statistical and bioinformatic analysis. The study was conducted in two steps involving two separate clinical studies, described in details in paper #3. Both clinical trials were approved by the Ethics Committee of Medical University of Bialystok.

In the first study, it was investigated whether plasma metabolites profile after HC and LC meal differs between men with OB/OW and NW. The obtained results showed changes in the level of nearly 40 metabolites, of which 17 were statistically significant between OB/OW and NW after HC meal. They belong to phospholipids, sphingolipids, fatty acid amides and branched chain amino acids. The associations of these metabolites with hyperglycemia, dyslipidemia, and inflammation were extensively discussed in the review #1. The emphasis was put on their diagnostic potential in predicting type 2 diabetes.

In the second study, it was examined whether HC meal induced altered plasma metabolite profile of OB/OW men are affected by cinnamon/capsicum intake in comparison to placebo. It was found that concentration of selected altered metabolites induced by HC meal was normalized by these spices administration. Thus, the obtained results support thesis that "functional food", such as cinnamon and capsicum, improves plasma markers of glucose and lipid metabolism related to obesity, and inflammation. The effect of numerous substances present in various berries, another example of "functional food", on plasma metabolites and their protective effects against diabetes and its complication were described widely in review #2.

Comments and questions

1. In the study one, participants obtained HC or LC meal to identify changes in postprandial profile of metabolites in OB/OW subjects in comparison to NW participants. The percentage of protein (11%), fat (0%), and carbohydrates (89%) in HC and LC (protein 30%, fat 25%, carbohydrates 45%) meals were

provided by the manufacturer of Nutridrink. Both HC and LC meals had almost equal percentage of simple sugars and polysaccharides. Could alterations in postprandial metabolite profile between OB/OW participants and NW participants be evoked by different content of fat and protein in HC and LC meal, in other words to what extent the content of fat and protein in HC and LC meal could affect the postprandial metabolite profile in OB/OW and NW participants.

Mono- and di-, saccharides are known as simple sugars, and are not recommended to patients with metabolic disturbances such as OB/OW or prediabetes. In turn, polysaccharides as a type of "functional food" have desired impact on metabolism and are recommended to OB/OW and diabetic patients. What kind of changes in postprandial metabolite profile would you expect after HC meal rich in polysaccharide (without simple sugars) in comparison to HC meal rich in simple sugars in OB/OW subjects? And what kind of changes in postprandial metabolite profile would you expect after LC meal rich in polysaccharide (without simple sugars) in comparison to LC meal rich in simple sugars in OB/OW participants?

2. You found significant differences in postprandial response to HC meal in OB/OW men in comparison to NW men. What is the clinical and practical significance of this finding, for example diet recommendation, diagnostic value of particular metabolite or other?
3. What biologically active chemical substances are present in cinnamon that was administered to OB/OW participants of the second study? Could you explain how active compounds of cinnamon affect cellular signaling and metabolic pathways leading to improvement of glycemia control in diabetes, lipids in dyslipidemia and reduction of proinflammatory cytokines.
4. Based on the results of the first and second study, what would you recommend to OB/OW people to improve their metabolism and reduce the progression of metabolic disturbances and reduce the risk of diabetes development, limitation of all carbohydrate types intake, or limitation of simple sugars intake, or administration of cinnamon, chili pepper or other „functional food" with HC meal

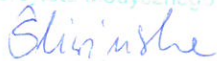
Conclusions

The comments and suggestions mentioned above do not diminish the merits of and my positive opinion about the PhD dissertation of Ahsan Hameed. The doctoral dissertation presents the general theoretical knowledge of the PhD student in the discipline and the ability to conduct scientific work independently. The reviewed PhD thesis contains elements of scientific novelty achieved through application of appropriate research methods. The goals of the work have been achieved and the results have been published in journals from the JCR list with high IF. The publications have been rigorously reviewed by foreign referees and found valuable. Thus, the doctoral dissertation of Ahsan Hameed meets all the requirements of a doctoral theses being a comprehensive and competent approach to the problem, i.e. Article 187 of the Act of 20 July 2018 Law on Higher Education and Science (Journal of Laws of 2022, item 574, as amended). I would like to emphasize that the PhD student, apart from the papers connected with PhD thesis, is the co-author of 19 other publications with the total IF 64.61 and 1166 points of the Ministry of Science and Education.

Taking into account the research concept and the cognitive value brought in by the results, I submit to the Senate of the Medical University of Bialystok a request to admit Ahsan Hameed, to further stages of the doctoral defense.

Lodz, January 31, 2023

Zakład
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi



dr hab. n. med. Agnieszka Śliwińska

Agnieszka Śliwińska