



Poznań, 18.01.2021

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Agata Chmurzyńska

Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu



Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Pauliny Opyd pt.

Prozdrowotne właściwości natywnych i odłuszczonych nasion konopi i lnu u szczurów z zaburzeniami metabolicznymi o podłożu genetycznym

Ocena formalna pracy

Przedłożona mi do oceny praca doktorska została wykonana w Zakładzie Biologicznych Funkcji Żywności, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, pod kierunkiem dr hab. Adama Jurgońskiego, profesora instytutu.

Na pracę doktorską składa się omówienie w języku polskim, które liczy 53 strony oraz trzy artykuły oryginalne składające się na dysertację:

- Opyd PM, Jurgoński A, Juśkiewicz J, Fotschki B, Koza J. Comparative effects of native and defatted flaxseeds on intestinal enzyme activity and lipid metabolism in rats Fed a high-fat diet containing cholic acid. *Nutrients*. 2018;10(9):1181.
- Jurgoński A., Opyd P., Fotschki B. Effects of native or partially defatted hemp seeds on hindgut function, antioxidant status and lipid metabolism in diet-induced obese rats. *J Funct Foods* 2020, 72, 10407.
- Opyd PM, Jurgoński A, Fotschki B, Juśkiewicz J. Dietary hemp seeds more effectively attenuate disorders in genetically obese rats than lipid fraction. *J Nutr*. 2020;150(6):1425-1433.



Oprócz tego dołączono oświadczenia dotyczące wkładu poszczególnych autorów w powstanie publikacji. Udział doktorantki w powstaniu poszczególnych prac wynosi - wg tych oświadczeń – odpowiednio 50, 40 i 50% i uważam go za kluczowy dla powstania wszystkich artykułów i adekwatny do wykonanych zadań.

Ocena merytoryczna pracy

Praca dotyczy analizy możliwości wykorzystania w diecie nasion lnu i konopi oraz pozyskiwanych z nich preparatów. Dodanie ich ma na celu podniesienie wartości odżywczej racji pokarmowej. Wybrany temat jest interesujący, a praca podejmuje kwestie, które wpisują się w aktualne trendy w nauce o żywności i żywieniu. Chociaż podobna tematyka była już przedmiotem badań, to praca doktorska zawiera elementy oryginalne i nowatorskie.

W pierwszej publikacji przedstawiono wyniki dotyczące porównania wpływu spożycia natywnych i odtłuszczonych nasion lnu na szczury karmione dietą wysokotłuszczową. Podobny schemat miało badanie opisane w pracy drugiej, przy czym do diety wysokotłuszczowej dodawano nasiona konopi. Natomiast w trzeciej pracy opisano wyniki badań nad porównaniem wpływu spożycia nasion konopi i oleju z nasion konopi na szczury *Zucker Diabetes Fatty* (ZDF). Badano wskaźniki funkcjonowania przewodu pokarmowego, funkcjonowania wątroby i metabolizmu lipidów oraz wskaźniki statusu przeciwutleniającego. Badania te są więc kompleksowe i stanowią spójną całość. Za szczególnie interesujące uważam wyniki opisane w trzecim artykule.

Ocena metodologiczna pracy

- a) Dobór literatury, umiejętność wykorzystania źródeł

Cytowane piśmiennictwo jest bezpośrednio związane z tematem artykułów, zostało właściwie dobrane i zacytowane. Podobnie piśmiennictwo we „Wstępie”.

- b) Poprawność formułowania problemów i hipotez (założeń badawczych)

Doktorantka w pełni posiadała umiejętność formułowania problemów badawczych i przedstawienia hipotez. We wszystkich artykułach przedstawiono aktualny stan wiedzy i



przesłanki do podjęcia badań, a także jednoznacznie sformułowano cele badań. Dyskusja w każdym z artykułów wskazuje na dogłębne przemyślenie uzyskanych wyników. Zaproponowane wnioski odnoszą się do założonych celów i są poparte wynikami z przeprowadzonych badań. W omówieniu pracy w języku polskim dodatkowo pojawił się wniosek dotyczący całości pracy, co uważam za słuszne.

c) Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętność ich zastosowania

Jeśli chodzi o dobór metod badawczych, to uważam go za trafny. Zastosowane metody umożliwiły prawidłową realizację zadań badawczych. Nie mam też zastrzeżeń co do sposobu i umiejętności zastosowania metod oraz interpretacji wyników. Szczegółowe uwagi dotyczące kwestii metodycznych w poszczególnych artykułach podane są w dalszej części recenzji.

d) Prawidłowość układu pracy i struktury podziału treści

Opis pracy w języku polskim obejmuje „Wstęp”, „Cel i zakres badań”, „Materiał i metody”, „Wyniki i dyskusję”, „Podsumowanie”, „Wnioski” oraz „Piśmiennictwo”. „Wstęp” przedstawia obecny stan wiedzy we wszystkich kwestiach związanych z tematem dysertacji. Zagadnienia opisane w tej części pracy są dobrze przedstawione i logicznie uporządkowane. Ryciny przedstawiające schematy poszczególnych doświadczeń ułatwiają zrozumienie założeń pracy i przebiegu doświadczeń. Natomiast wszystkie trzy artykuły składające się na dysertację mają układ typowy dla prac eksperymentalnych, tzn. składają się na nie rozdziały: „Abstract”, „Introduction”, „Materials and methods”, „Results”, „Discussion” oraz ewentualnie „Conclusions”.

e) Uwagi i propozycje

Ciekawym i istotnym aspektem, który można by było uwzględnić w pracy jest analiza wchłaniania/wydalania tłuszczów.



Szczegółowe uwagi dotyczące opisu pracy w języku polskim oraz poszczególnych prac:

Co do omówienia w języku polskim, to ponieważ jest on opisem tego co znajduje się w artykułach składających się na dysertację, odniosę się tylko do „Wstępu”.

1. Na stronie 11 autorka stwierdza, że „dieta HF i uboga w błonnik, a także otyłość sama w sobie, zaburzają mikrobiotę jelitową”. Ze względu na to, że związki przyczynowo-skutkowe nie są dokładnie poznane, skłaniałabym się raczej ku stwierdzeniu, że między wymienionymi czynnikami zachodzą zależności, bez wskazywania co jest przyczyną czego.
2. Jeśli chodzi o opis uwarunkowań otyłości, to są w nim pewne niedociągnięcia. Należy odróżnić defekty genetyczne, powodujące otyłość monogenową, od otyłości uwarunkowanej wieloczynnikowo, zależnej od polimorfizmu wielu różnych genów i czynników środowiskowych. Jeśli chodzi o dziedziczalność otyłości wieloczynnikowej, to wynosi ona 40-70%, co oznacza że za zmienność fenotypową w populacji w 40-70% odpowiada zmienność czynników genetycznych.

Uwagi dotyczące poszczególnych artykułów:

Ad. 1

1. W rozdziale „Introduction” warto byłoby nieco bardziej naświetlić potrzebę porównania nasion natywnych i odtłuszczonych.
2. Skład przedstawionej diety odbiega od wzorca opisanego przez Reeves, 1997 (dotyczy to wszystkich trzech artykułów), co było wskazane w tekście. Zastanawia mnie jednak dlaczego zamiast L-cystyny dodano DL-metioninę. Ze względu na to, że czynnikiem doświadczalnym był dodatek nasion i olejów, zastanawiający też jest brak dodatku TBHQ.
3. Jak były przechowywane pobrane tkanki?
4. Czy przeprowadzono analizę rozkładu danych pochodzących z analizy transkrypcji? Często nie mają one charakteru rozkładu normalnego.



5. Mam wątpliwości co do prawidłowości zastosowania sformułowań „increased/decreased” do opisu wyników. Użycie wyłącznie takich określeń nie pozwala odróżnić sytuacji, w której porównujemy wyniki sprzed i po eksperymencie od porównania grup w jednym punkcie czasowym. W drugiej sytuacji bardziej właściwe wydaje się zastosowanie określeń „lower/higher”.

Ad. 2

1. Chociaż schemat badań jest zasadniczo taki sam jak w artykule pierwszym, to dieta HF bazuje nie na smalcu tylko na oleju palmowym. Dlaczego?
2. Jaki był powód zastosowania dwóch różnych genów referencyjnych w obu badaniach? Czy wyboru dokonano na podstawie wstępnej analizy różnych genów referencyjnych?
3. Moją uwagę zwrócił wynik zaprezentowany w tabeli 5. W grupie HF + DHS stężenie ALT w osoczu było ponad czterokrotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Wyższe również niż w grupie HF + HS. Jak interpretować ten wynik?
4. Pod tabelą 6 przedstawiono niewłaściwe skróty.
5. Wielokrotnie udowodniono, że ektopowa ekspresja *Pparg* w wątrobie jest wskaźnikiem stłuszczenia wątroby. Potwierdza to wynik zaprezentowany w tabeli 5, tzn. stężenia triacylogliceroli w wątrobie są najwyższe w grupach HF oraz HF + HS i jest to zgodne z wynikami badań ekspresji.

Ad. 3

1. W opisie analizy statystycznej podano, że stosowano testy parametryczne i nieparametryczne. Nie wiadomo jednak, które dane analizowano w jaki sposób.
2. Czy kierowano się jakimiś przesłankami przy ustalaniu procentowej zawartości nasion i oleju w diecie?
3. Pod tabelą 4 brakuje objaśnienia niektórych skrótów.

Uwaga ogólna: zgodnie z obowiązującą nomenklaturą, nazwy genów szczura zapisuje się kursywą, pierwsza wielka litera, pozostałe litery małe.



Podsumowanie

Stwierdzam, że dysertacja przedstawiona mi do oceny spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim. Praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a jej wyniki mają wpływ na rozwój dyscypliny technologia żywności i żywienia. Zwracam się zatem do Rady Naukowej Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie o dopuszczenie mgr Pauliny Opyd do dalszych etapów postępowania.

Ameryka