

Prof. dr hab. dr n. med. Renata B. Kostogrys
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
Wydział Technologii Żywności
Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki

Kraków, 15 grudnia 2020 r.

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr inż. PAULINY OPYD

pt. „Prozdrowotne właściwości natywnych i odtłuszczonych nasion konopi i lnu u szczurów z zaburzeniami metabolicznymi o podłożu żywieniowym lub genetycznym”

wykonanej w Zakładzie Biologicznych Funkcji Żywności

Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

pod kierunkiem dr hab. Adama Jurgońskiego, prof. instytutu

Nadwaga i otyłość wraz z innymi chorobami związanymi z nieprawidłowym odżywianiem stanowią jedną z głównych przyczyn zgonów w Europie. Obecnie poszukuje się alternatywnych sposobów prewencji otyłości. Doskonałą możliwością upatruje się w zmianie sposobu żywienia. Okazuje się, że jednym ze sposobów przeciwdziałania rozwojowi chorób dietozależnych jest zwiększenie udziału żywności pochodzenia roślinnego w codziennej diecie. Taka strategia wynika z relatywnie niewielkiej kaloryczności produktów pochodzenia roślinnego. Dodatkowo zwraca się również uwagę na korzystną dla zdrowia obecność w żywności pochodzenia roślinnego składników biologicznie aktywnych. Do takich związków zalicza się wielonienasycone kwasy tłuszczowe (WNKT), a wśród nich niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe.

Mając powyższe na uwadze podjęcie przez mgr inż. Paulinę Opyd badań mających na celu zbadanie możliwości wykorzystania nasion bogatych w WNKT oraz pozyskiwanych z nich częściowo odtłuszczonych preparatów w kształtowaniu odżywczych i prozdrowotnych właściwości diety należy uznać za jak najbardziej uzasadnione.

W ocenie przedłożonej pracy składającej się z dwóch części (opisu oraz trzech artykułów) oceniam stronę formalną dysertacji, jak również zwracam uwagę na jej wartość merytoryczną, w tym zasadność celu pracy, metodologię badań, umiejętność interpretacji i dyskusji otrzymanych wyników, a także wnioskowania. Recenzja pracy doktorskiej oparta jest na analizie obu załączonych części tj. opisu zawartości artykułów, jak również treści artykułów.

Ocena formalna pracy

Rozprawę doktorską stanowi zestaw trzech publikacji poprzedzonych 53-stronicową częścią wprowadzającą do prac, w skład której wchodzi: wykaz akronimów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy i zakres badań, w którym postawiono trzy hipotezy badawcze, materiały i metodyka badań, syntetyczne omówienie i dyskusja wyników, podsumowanie i wnioski oraz bibliografia. Całość zamykają załączniki w postaci oświadczeń współautorów. Publikacje stanowiące rozprawę doktorską to zbiór oryginalnych prac naukowych, które zostały opublikowane w czasopiśmie z listy *Journal Citation Reports* i dotyczą wspólnego obszaru badawczego, a mianowicie prozdrowotnych właściwości natywnych i odtłuszczonych nasion lnu i konopi u szczurów.

Wśród trzech publikacji wykazanych jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę postępowania doktorskiego pierwsza została zamieszczona w *Nutrients* (140 pkt. MNiSW, IF=4.171, Artykuł 1), druga w *Journal of Functional Foods* (100 pkt. MNiSW, IF=3.701, Artykuł 2), a trzecia w *Journal of Nutrition* (140 pkt. MNiSW, IF=4.281, Artykuł 3).

W dokumentacji przesłanej do recenzji przedłożono oświadczenia współautorów potwierdzających udział Doktorantki w badaniach. Wszystkie załączone prace są współautorskie (od trzech do pięciu współautorów). W zgłoszonych do uzyskania stopnia doktora artykułach Doktorantka jest autorem wiodącym (w dwóch pracach pierwszym, a w jednej drugim). Jej procentowy udział w pracach wynosi: 40% w jednej publikacji i po 50% w dwóch pozostałych.

Wprawdzie przedstawione prace są wieloautorskie, jednakże czasopisma w których opublikowano wyniki bez wątpienia zaliczyć należy do czasopism renomowanych. Na podkreślenie zasługują ilościowe wskaźniki charakteryzujące publikacje wchodzące w skład monotematycznego cyklu. Łączny *impact factor* wymienionych publikacji wynosi 12.153, a suma punktów zgodnie z wykazem MNiSW wynosi 380. Wynik ten jest imponujący.

Praca doktorska została zrealizowana w ramach projektu badawczego OPUS 2016/23/B/NZ9/01012 finansowanego z środków Narodowego Centrum Nauki.

Część wprowadzająca napisana jest ładną polszczyzną i jest pozbawiona błędów stylistycznych oraz interpunkcyjnych, co świadczy o jej niezwykle starannym przygotowaniu.

Ocena poprawności sformułowania tytułu, celu pracy oraz jego uzasadnienia

Tytuł pracy jest sformułowany poprawnie i realizowany w zaplanowanych eksperymentach. W rozdziale *Cel i zakres badań* Doktorantka podaje cel główny. Cel ten został sprecyzowany w sposób jasny i klarowny. Został on sformułowany prawidłowo, podobnie jak postawione hipotezy badawcze.

We wstępie Autorka wyjaśniła uzasadnienie podjętego tematu. Autorka przejrzysto przedstawiła w nim podstawy naukowe rozprawy. Doktorantka opisała konsekwencje nadmiernej konsumpcji żywności, a tym samym nadmiernej ilości energii nawiązując do zwierzęcych modeli otyłości. Podjęła również próbę wskazania potencjalnych możliwości prewencyjnych, jakim jest zwiększenie udziału żywności pochodzenia roślinnego w codziennej diecie. Wg Autorki przyczynia się ono nie tylko do obniżenia kaloryczności diety, ale również zwiększa możliwości dostarczenia składników biologicznie aktywnych. Zamieszczone dane Autorka poparła cytatami z bibliografii zawierającej aktualne pozycje literaturowe (50 pozycji). Piśmiennictwo wykorzystane w tym rozdziale jest starannie dobrane. Wiele prac pochodzi bowiem z ostatnich pięciu lat.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska włącza się w światowy nurt badań nad prozdrowotnymi właściwościami natywnych i odtłuszczonych nasion lnu i konopi u szczurów.

W ocenie szczegółowej tej części pracy zwracam jednak uwagę na następujące aspekty:

- w rozdziale: „Cel pracy i zakres badań” Doktorantka podaje jedynie cel główny. Zasadne jest podanie celu uzupełniającego podjętych badań, w którym można szczegółowo zdefiniować problemy badawcze;
- proponuję zamiast „szczur laboratoryjny” użyć nazwę „szczur wędrowny”.

Ocena metodologii badań

Autorka w części wprowadzającej do prac przedstawia zarys doświadczeń żywieniowych, stosowanych metod analitycznych oraz statystycznych. Wszystkie procedury z udziałem zwierząt są wg Autorki zatwierdzone przez Lokalną Komisję Etyczną. Opis doświadczeń jest skrupulatny i uporządkowany.

Realizacja nakreślonego celu wymagała zastosowania specyficznych analiz. Przedstawiona rozprawa doktorska wykonana została za pomocą poprawnych metod badawczych przy wykorzystaniu

właściwie dobranych nowoczesnych metod instrumentalnych. W mojej opinii dobór metod jest właściwy w stosunku do założonego celu, zarówno w zakresie badań *in vivo*, jak i analiz chemicznych.

W tej części pracy nasuwają się następujące wątpliwości/spostrzeżenia:

- Autorka podaje, że skład natywnych i częściowo odtłuszczonych nasion lnu nie był analizowany, a skorzystano z deklaracji producenta. Uważam, że do bilansowania diety skład nasion należałoby potwierdzić analizami własnymi;
- Doktorantka nie podaje numerów zgód Lokalnych Komisji Etycznych;
- brakuje wyjaśnienia doboru i celowości stosowania w badaniach *in vivo* 1% nasion lnu i konopi w diecie szczurów Wistar oraz użycia 12% nasion konopi w diecie szczurów Zucker;
- w ogromnej większości badań żywieniowych stosuje się dietę AIN-93 opracowaną przez Reeves i wsp. [1993]. Nasuwa się pytanie, dlaczego Autorka zdecydowała się na zamianę źródła tłuszczu stosując olej rzepakowy zamiast sojowego? Również Autorka nie wyjaśnia zastosowania smalcu (14% w doświadczeniu 1) oraz oleju palmowego (18% w doświadczeniu 2 i 4% w doświadczeniu 3);
- Autorka powinna wytłumaczyć co skłoniło Ją do prowadzenia dwóch pierwszych doświadczeń przez okres 8 tygodni, natomiast doświadczenia trzeciego przez 29 dni (str. 23).

Ocena prezentacji, interpretacji i dyskusji wyników

W syntetycznym omówieniu wyników Doktorantka dokonała przedstawienia rezultatów badań mieszczących się w załączonych publikacjach. W opisie odniosła się do najważniejszych wyników i przedstawiła krótką dyskusję. Autorka wykazała się tym samym dużą znajomością problematyki i umiejętnością wykorzystania literatury naukowej. W omawianym rozdziale Doktorantka porównuje uzyskane rezultaty z wynikami prac innych badaczy. Koncentruje się również na ocenie mechanizmów stwierdzonych zależności.

Nasuwają się następujące spostrzeżenia:

- w celu wyjaśnienia mechanizmu działania diety HF autorka przeprowadziła badania na poziomie molekularnym (analizę ekspresji genów najważniejszych białek zaangażowanych w metabolizm

lipidowy, w tym PPAR α). Wyniki doświadczenia 1 i 2 nie są jednoznaczne. Może należałoby sprawdzić geny związane z badanym czynnikiem transkrypcyjnym.

Ocena wnioskowania

Na podstawie otrzymanych wyników sformułowano sześć wniosków. Przedstawiają one najważniejsze wyniki badań w kontekście założonego celu. Stanowią one więc raczej podsumowanie przeprowadzonych badań.

Ocena wykorzystanej bibliografii

W części opisowej skorzystano z 99 pozycji literatury. Większość z nich to oryginalne prace twórcze. Ponad 28% cytowanych prac opublikowano w ostatnich pięciu latach, z czego cztery prace są z bieżącego roku. Na uwagę zasługuje więc zarówno trafny dobór źródeł oraz ich aktualność.

Przegląd artykułów wchodzących w zakres pracy doktorskiej

Artykuł 1:

W artykule przedstawiono ocenę wpływu suplementacji diety natywnymi lub częściowo odtłuszczonymi nasionami lnu (1% diety) na funkcjonowanie przewodu pokarmowego i metabolizm lipidów u szczurów Wistar z zaburzeniami metabolicznymi indukowanymi dietą wysoko-tłuszczową zawierającą kwas cholewowy. Eksperyment żywieniowy prowadzono przez osiem tygodni. Wykazano, że suplementacja diety nasionami lnu może wywierać korzystny wpływ na funkcje jelit i metabolizm lipidów u szczurów, przy czym odtłuszczenie ma wpływ na te efekty.

Doktorantka przedstawiła uzyskane wyniki w sposób zwięzły właściwie je interpretując i przeprowadzając prawidłową ich analizę.

Udział w tworzeniu publikacji Autorka szacuje na 50%. W ramach prac Doktorantka opracowała koncepcję badań, brała udział w pobieraniu materiału biologicznego, w wykonywaniu analiz laboratoryjnych oraz w interpretacji wyników. Autorka przygotowała manuskrypt oraz wykonywała czynności związane z procesem publikacyjnym.

O wysokiej wartości merytorycznej pracy świadczy fakt, że wg Web of Science była ona cytowana już dziewięć razy. W pełni popieram również wniosek Doktorantki, że kwas cholowy nie jest najlepszym czynnikiem indukującym zaburzenia metaboliczne.

Artykuł 2:

W artykule przedstawiono wpływ suplementacji diety natywnymi lub częściowo odtłuszczonymi nasionami konopi (1% diety) na funkcjonowanie końcowego odcinka przewodu pokarmowego, status przeciwutleniający i metabolizm lipidów u szczurów z otyłością indukowaną dietą HF z dodatkiem cholesterolu. Zwierzęta przez osiem tygodni żywiono półsyntetycznymi dietami. Wyniki wskazują, że spożywanie nasion zmniejsza negatywne działanie wysokotłuszczowej diety.

Doktorantka przedstawiła uzyskane wyniki w sposób przejrzysty i właściwie je zinterpretowała. Rezultaty badań zostały przedstawione w formie wykresów w sposób czytelny i zrozumiały. Warto podkreślić, że cała analiza uzyskanych rezultatów została przeprowadzona bardzo wnikliwie i starannie.

Procentowy udział w tworzeniu publikacji Autorka szacuje na 40%. W ramach prac Doktorantka brała udział w opracowaniu koncepcji badań, deklaruje współudział w pobieraniu materiału biologicznego, w wykonywaniu analiz laboratoryjnych oraz w interpretacji wyników. Autorka przygotowała manuskrypt oraz wykonywała czynności związane z procesem publikacyjnym.

Artykuł 3:

W artykule przedstawiono wpływ dodatku do diety nasion konopi oraz oleju z nasion konopi na rozwój zaburzeń metabolicznych u genetycznie otyłych szczurów Zucker. Zwierzęta przez 29 dni żywiono zmodyfikowanymi półsyntetycznymi dietami (AIN-93, Reeves, 1997). Wykazano, że nasiona konopi skuteczniej łagodzą zaburzenia metaboliczne u genetycznie otyłych szczurów niż pozyskiwany z nich olej, co sugeruje, że frakcja lipidowa jest tylko częściowo odpowiedzialna za obserwowane korzystne efekty.

Autorka szacuje swój udział w tworzeniu publikacji na 50%. Deklaruje współudział w opracowaniu koncepcji badań, współudział w pobieraniu materiału biologicznego, w wykonywaniu analiz laboratoryjnych oraz w interpretacji wyników. Autorka brała udział w przygotowaniu manuskryptu oraz wykonywała czynności związane z procesem publikacyjnym.

Rolą recenzenta jest wskazanie uchybień, których Doktorantka się nie ustrzegła w swojej pracy:

- dietę AIN-93 nazywa się dietą kontrolną a nie kazeinową;
- Autorka cytując pracę Łucka i Wysokiński podaje rok 2020, a prawidłowy rok opublikowania to 2019 (bibliografia podaje odpowiedni rok publikacji) (str. 12);
- Autorka zamiast „odtłuszczone nasiona” pisze „otłuszczone nasiona” (str. 19);
- Autorka powinna unikać sformułowania „niewielką ilością” (m.in. str. 20, str. 31, str. 41);
- Autorka tłumaczy „lean rats” nazywając je chude. To raczej rzadko stosowana nazwa (str. 22).
- Autorka pisząc „suplementacja poprawiła niektóre markery związane z metabolizmem lipidów w wątrobie” powinna wymienić o jakich mowa (str. 34);
- Autorka niepotrzebnie „istotnie statystyczne różnice” nazywa „nieznaczne zmiany” (str. 36);
- 6. Wnioski – tytuł jest napisany dużymi literami (str. 45).

W pracy pojawiają się sporadyczne błędy językowe np. „Amoniak w świeżej treści jelita ślepego ekstrahowano...” (str. 24).

Jednocześnie stwierdzam, że uchybienia te są niewielkie i nie mają wpływu na wartość pracy.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa stanowi bardzo wartościowe opracowanie naukowe, świadczące o doskonałym przygotowaniu merytorycznym i warsztatowym Doktorantki.

Autorka określiła problemy badawcze, sformułowała cel pracy, sprecyzowała metodologię badań. W efekcie uzyskała wiele wartościowych wyników oraz dokonała prawidłowej ich interpretacji. Autorka opisuje również ograniczenia doświadczeń, co świadczy o Jej dojrzałości naukowej. Podsumowując moją ocenę pracy doktorskiej **mgr inż. PAULINY OPYD** pragnę podkreślić, duży wkład pracy włożony w jej realizację. Dodatkowo poziom edytorski pracy należy ocenić jako bardzo wysoki.

Podkreślić należy również potencjalny aspekt aplikacyjny pracy. Podejmowanie badań mających na celu określenie prozdrowotnych właściwości natywnych i odtłuszczonych nasion lnu i

konopi w diecie wzbogaca istniejący stan wiedzy. Wyniki te potwierdzają bowiem, że z uwagi na obecność składników cennych z żywieniowego punktu widzenia, systematyczne spożywanie nasion lnu zwyczajnego i konopi siewnych może być korzystne dla zdrowia. Uzyskane wyniki sugerują, że w prewencji zaburzeń metabolicznych o podłożu żywieniowym lub genetycznym można wykorzystać częściowo odtłuszczone nasiona niektórych roślin oleistych dostępnych jako produkt uboczny przemysłu olejarskiego. Dają tym samym również nadzieję na praktyczne wykorzystanie tej wiedzy podczas projektowania sposobu żywienia przeznaczonego dla określonych grup populacyjnych oraz pojedynczych osób.

Uważam, że zarówno dobór tematu pracy doktorskiej, jej zakres i cele poznawcze oraz utylitarne są prawidłowe. Użyty w pracy doktorskiej nowoczesny metodyczny warsztat naukowy pozwala na prawidłową realizację postawionych celów badawczych. Ogólnie zarysowana teza naukowa pracy jest nowatorska. Nieliczne uwagi/spostrzeżenia zawarte w recenzji w żaden sposób nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy.

Stwierdzam, że praca mgr inż. PAULINY OPYD spełnia warunki stawiane pracom doktorskim określone w art. 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 z 2003 r., poz. 595, z późn. zm.) z dnia 14 marca 2003 roku.

Zatem mam zaszczyt przedstawić

Wysokiej Radzie Naukowej

Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie

wniosek o dopuszczenie

Pani mgr inż. PAULINY OPYD

do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie stawiam wniosek o wyróżnienie ocenionej pracy po spełnieniu wymogów formalnych określonych przez Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie.

