

Dr hab. inż. Joanna Kałuża, prof. SGGW
Katedra Żywienia Człowieka
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
e-mail: joanna_kaluza@sggw.edu.pl

Warszawa, dn. 08.05.2023 r.

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Eweliny Kukielki-Gastoł pt. **”Wpływ jonów magnezu oraz rodzaju zastosowanego tłuszczu na wybrane parametry metabolizmu glukozy oraz lipidów w organizmie szczura Wistar”** wykonanej w Katedrze Żywienia Człowieka i Dietetyki Wydziału Technologii Żywności na Uniwersytecie Rolniczym im. Hugona Kołłątaja w Krakowie pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Anety Kopeć

Podstawa prawna: Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, art. 13.1 z późn. zm.) oraz o przepisach zmieniających ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 3 lipca 2018 roku (Dz.U. z 2018 pozycja 1669).

Podstawą opracowania oceny jest: pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie Pana dr hab. inż. Marcina Łukasiewicza, prof. URK, który zgodnie z decyzją Rady ww. dyscypliny zwrócił się z prośbą o ocenę pracy doktorskiej mgr inż. Eweliny Kukielki-Gastoł.

Ocena formalna pracy

Praca została przygotowana w postaci monografii liczącej ogółem 166 stron tekstu, w tym spis treści, streszczenie w języku polskim, streszczenie w języku angielskim i wykaz skrótów zajmują 9 stron, wstęp zajmuje 2 strony, przegląd literatury – 20 stron, hipoteza badawcza i cel pracy – 1 stronę, materiał badawczy i metody badań – 20 stron, omówienie wyników - 35 stron, dyskusja – 37 stron, wnioski – 2 strony, spis literatury 22 strony (łącznie 217 pozycji piśmiennictwa), spis tabel i rysunków – 2 strony oraz załączniki – 6 stron. W tekście rozprawy zamieszczono 37 tabel oraz 7 rysunków. Na realizację badań uzyskano zgodę I Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie (nr 165/2015). Praca ma układ typowy dla monograficznych prac naukowych.

Uzasadnienie podjęcia tematu

Głównym celem pracy autorstwa mgr inż. Eweliny Kukielki-Gastoł była ocena wpływu zwiększonego udziału magnezu w dietach eksperymentalnych zawierających różne rodzaje i ilości tłuszczów jadalnych (masła, łoju wołowego, tłuszczu palmowego, oleju rzepakowego) na wybrane

parametry biochemiczne samców szczurów szczepu Wistar. W celach szczegółowych doprecyzowano, iż w pracy poddano ocenie wpływ ww. diet na poziom glukozy i insuliny, profil lipidowy, kumulację tłuszczu w wybranych narządach, stężenie wybranych składników mineralnych w surowicy krwi, w wybranych narządach i kale, a także oznaczono aktywność wybranych enzymów, markerów antyoksydacyjnych oraz oceniono ekspresję mRNA genów związanych z metabolizmem tłuszczów.

Wybór tematu badawczego świadczy o sprecyzowanych zainteresowaniach naukowych Autorki. Doktorantka uzasadniła potrzebę i ważność podjętego tematu, wskazując, iż zwiększone ilości magnezu w diecie poprzez wpływ na gospodarkę węglowodanów i lipidów mogą mieć prewencyjny wpływ na otyłość i choroby współistniejące, w tym zespół metaboliczny.

W przeglądzie piśmiennictwa m.in. omówiono rolę magnezu w organizmie, konsekwencje niedoboru i nadmiaru tego pierwiastka, dostępność magnezu z suplementów diety, przedstawiono podział tłuszczów i ich wpływ na zdrowie. Ta część rozprawy doktorskiej dobrze wprowadza do dalszych rozdziałów pracy, stanowiąc podłoże teoretyczne do części doświadczalnej. Została ona przygotowana z należytą starannością. Biorąc pod uwagę temat prowadzonych badań, w opinii recenzentki, zabrakło w niej odniesienia do górnego tolerowanego spożycia magnezu (*z ang. Tolerable Upper Intake Level*), który w przypadku tego pierwiastka został ustalony dla jego pobrania z suplementami diety i/lub produktami wzbogacanymi.

Materiał badawczy i metody badań

W ramach pracy przeprowadzono dwa doświadczenia na albinotycznych szczurach Wistar płci męskiej o początkowej masie ciała 120-130 g. W doświadczeniu I 7% udział oleju sojowego w paszy szczurów zastąpiono 7% i 14% udziałem masła i łożu wołowego dodatkowo wprowadzając suplementację magnezem do grup z największym udziałem tłuszczu. Schemat doświadczenia II był analogiczny do doświadczenia I, przy czym olej sojowy w paszy zwierząt zastąpiono tłuszczem palmowym i olejem rzepakowym.

Metodykę pracy opisano w sposób jasny i zrozumiały. Skład zmodyfikowanych diet zwierząt przedstawiono w tabelach, co ułatwia zrozumienie istoty przeprowadzonych doświadczeń. Szczególnie ważne z metodycznego punktu widzenia było wykonanie przez Doktorantkę oznaczeń profilu kwasów tłuszczowych użytych diet doświadczalnych, a także oznaczenie wartości energetycznej. Biorąc pod uwagę, że wybrane diety doświadczalne były wzbogacane w magnez zasadne byłoby również oznaczenie rzeczywistej zawartości magnezu w dietach. Różnica w ilości magnezu w dietach zależy od ilości tlenku magnezu dodanego do mieszanki mineralnej, ale również inne składniki diety, takie jak skrobia kukurydziana, stanowią dodatkowe źródło tego pierwiastka, a więc faktyczna ilość magnezu mogła różnić się od ilości zakładanych.

W ramach pracy Doktorantka wykonała wiele oznaczeń laboratoryjnych, co biorąc pod uwagę dwa przeprowadzone doświadczenia wymagało nakładu wielu godzin pracy, a także świadczy o szerokim warsztacie badawczym. W sumie w 14 grupach zwierząt, każda po 8 sztuk, wykonano oznaczenia ponad 25 różnych parametrów. Przy czym na str. 49 pracy Doktorantka wskazuje, że

wyliczono wskaźnik Castelliego – CRI-II ze wzoru LDL/HDL, nasuwa się pytanie w jaki sposób określono stężenie cholesterolu LDL, autorka wcześniej na tej samej stronie podaje, że stężenie cholesterolu HDL oznaczyła w próbkach krwi laboratoryjnie, zaś sumę frakcji cholesterolu LDL+VLDL wyliczyła odejmując od stężenia cholesterolu całkowitego stężenie cholesterolu HDL. Należy podkreślić, że sumaryczne podawanie frakcji cholesterolu LDL+VLDL jest praktykowane w badaniach na szczurach, uważa się że ich oddzielna analiza nie jest właściwa. Ponadto nasuwa się pytanie, czy oznaczając stężenie wapnia, magnezu, fosforu, sodu i potasu w próbkach wątroby oraz kału kontrolowano poprawność oznaczeń, zastosowano wzorzec zewnętrzny (materiał referencyjny) lub inną metodę.

Mgr inż. Ewelina Kukiełka-Gastoł nie porównała w pracy masy ciała szczurów w poszczególnych grupach w punkcie zerowym doświadczenia I oraz doświadczenia II. Wykazanie braku różnic przed rozpoczęciem interwencji między grupami w średnich masach ciała dałoby mocne podstawy sądzić, iż otrzymane zależności w dalszych etapach badania nie były wynikiem różnic w początkowych masach ciała zwierząt. Takie dane mogłyby zostać zamieszczone w aneksie pracy, jako uzupełniające. W Tabeli 9 oraz Tabeli 21 podano średnie przyrosty masy ciała oraz współczynnik FER (*z ang. feed efficiency ratio*) w grupach zwierząt, jednakże nie przedstawiono spożycia diety w poszczególnych okresach doświadczenia. Przy długotrwałym eksperymencie współczynnik FER liczony w całym okresie mógł ulec wypłaszczeniu (np. obliczenia na podstawie danych zamieszczonych w Tabeli 9 dla grupy AIN-93G są następujące $531,5/0,183=2904,4$ g, natomiast dla grupy 14%ŁW – $663/0,195=3400$ g). Na podstawie tych prostych obliczeń można wnioskować, że spożycie diety różniło się między grupami, a więc zaobserwowane różnice w oznaczanych parametrach mogły nie tylko wynikać z ilości i rodzaju tłuszczu w diecie, ale także większej ilości dostarczonych innych składników diety na skutek większego jej spożycia. W związku z powyższym rodzi się pytanie czy Doktorantka w trakcie eksperymentu kontrolowała na bieżąco wielkość spożycia paszy w poszczególnych grupach zwierząt oraz czy korygowała to spożycie, a jeśli tak to w stosunku do której grupy.

Omówienie wyników

Wyniki otrzymane w pracy przedstawiono w licznych tabelach. Konsekwentna i logiczna ich prezentacja według przyjętego przez Autorkę pracy schematu sprawiły, że zostały one przedstawione czytelnie i są stosunkowo łatwe w śledzeniu i odbiorze. Trzeba przyznać, że klarowne przedstawienie tak obszernej ilości wyników nie było łatwe. Doktorantka poradziła sobie z tym elementem pracy bardzo dobrze. Niewątpliwie jest to bardzo wartościowa część pracy pod względem poznawczym. Autorka umiejętnie wybrała i opisała te wyniki, które były istotne dla zrealizowania celu głównego pracy, celów cząstkowych oraz weryfikacji hipotezy badawczej.

Merytorycznie tę części pracy oceniam wysoko. Po zapoznaniu się z tym rozdziałem pracy nasuwają się jedynie drobne kwestie techniczne. Jeszcze łatwiej odbierałoby się wyniki, gdyby przy średnich dla parametrów nieróżniących się statystycznie istotnie między grupami Autorka nie wpisywała za każdym razem przy każdej z grup oznaczenia „a” (niepotrzebnie to zamazuje i tak bogate tabele). Podsumowując niektóre z wyników Doktorantka używa kilkakrotnie następującej konstrukcji zdania „Wprowadzenie podwójnej ilości jonów magnezu do diet (...) spowodowało obniżenie

omawianego parametru do wartości kontrolnej” (np. str. 70 czy str. 72), należało raczej napisać (...) do wartości porównywalnych bądź nieróżniących się statystycznie istotnie od tych otrzymanych w grupie kontrolnej. Ponadto zastanawiające są wyniki stężenia żelaza w kale szczurów w doświadczeniu II (duże ich wahania pomiędzy poszczególnymi grupami). Na ich podstawie rodzi się pytanie czy zwiększenie tłuszczu w diecie (grupy 14%TP i 14%OR) zwiększało wchłanianie żelaza, przez co obniżało się jego wydalanie z kałem, przy czym efekt ten był tłumiony przez magnez przy stosowaniu diet wzbogaconych w ten pierwiastek; jeśli tak to czy jest jakieś wytłumaczenie dlaczego takich zależności nie obserwowano w doświadczeniu I, czy Autorka zna wyniki badań innych prac w tym zakresie.

Dyskusja wyników

W ramach pracy przeprowadzono szeroką dyskusję otrzymanych wyników. Układ dyskusji ma logiczną całość, podzieloną na kilka podrozdziałów odpowiadających zaprezentowanym wynikom. Merytorycznie jest to bardzo cenna część pracy, w której Autorka zwięźle odniosła się do najważniejszych otrzymanych wyników własnych, następnie tam gdzie było to możliwe przywołała potencjalne mechanizmy wyjaśniające poczynione obserwacje, oraz przedyskutowała otrzymane wyniki z wynikami innymi prac przeprowadzonymi na zwierzętach, a także z udziałem ludzi. Doktorantka w tej części pracy zawarła również własne przemyślenia i wnioski dotyczące otrzymanych wyników. W dyskusji wyników wyeksponowane są także te części badania modelowego, które można uznać jako novum badawcze, natomiast brakuje przemyśleń na temat ograniczeń prowadzonych badań.

Przeprowadzona dyskusja świadczy o dużej dojrzałości naukowej i doświadczeniu Badaczki, świadczy o szerokiej wiedzy, umiejętności kojarzenia faktów oraz swobodzie poruszania się w zakresie prowadzonych badań, a także o dogłębnym przeanalizowaniu piśmiennictwa światowego. Imponująca jest liczba pozycji piśmiennictwa, na którym mgr inż. Ewelina Kukiełka-Gastoń opierała się w trakcie przygotowywania niniejszej rozprawy – stanowi 217 pozycji, z czego około 90% stanowiły pozycje angielskojęzyczne zamieszczone w czasopismach z wysokim współczynnikiem wpływu IF.

Wnioski

Przedstawione na pierwszej stronie przez Doktorantkę wnioski są stwierdzeniami odnoszącymi się bezpośrednio do otrzymanych w pracy wyników. Autorka odnosi się przy ich przytaczaniu do hipotez badawczych, mianowicie czy zostały one potwierdzone. Należy podkreślić, że wnioski są bardzo ważnym elementem każdej pracy badawczej, dlatego ważne jest, aby wyrażać się w nich precyzyjnie i unikać tzw. skrótów myślowych. Ten element nastęrczył Doktorantce pewnych kłopotów, mianowicie sformułowanie „Zastosowanie magnezu w dietach (...)” powtórzone kilkakrotnie nie jest precyzyjne.

Przedstawiony na drugiej stronie wniosek ogólny ma charakter wniosku. A właściwie wyodrębniono w tej części dwa wnioski, przy czym forma w jakiej zostały one zaprezentowane bardziej przypomina rodzaj podsumowania. Na uwagę zasługuje również fakt, że Doktorantka we wnioskach wskazuje na potrzebę prowadzenia dalszych badań.

Reasumując otrzymane w pracy wyniki i wyciągnięte wnioski mają duży potencjał naukowy. Rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a otrzymane wyniki stanowią duży potencjał do opublikowania w czasopismach o wysokim współczynniku wpływu.

Wniosek końcowy

Po zapoznaniu się z przedstawioną do oceny rozprawą doktorską Pani mgr inż. Eweliny Kukiełki-Gastoł pt. "Wpływ jonów magnezu oraz rodzaju zastosowanego tłuszczu na wybrane parametry metabolizmu glukozy oraz lipidów w organizmie szczura Wistar" stwierdzam, że w pełni spełnia ona wszystkie wymogi formalne stawiane tego typu opracowaniom zgodnie z art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14.03.2003 (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zm.) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz o przepisach zmieniających ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 3 lipca 2018 roku (Dz.U. z 2018 pozycja 1669). W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie wniosek o dopuszczenie mgr inż. Eweliny Kukiełki-Gastoł do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. inż. Joanna Kałuża, prof. SGGW