



Prof. dr hab. Ewa Stachowska  
Zakład Żywienia Człowieka i Metaboliki  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Szczecin 30.01.2022

### **Recenzja rozprawy doktorskiej Anny Antończyk**

#### **” Wpływ syntetycznych antyoksydantów fenolowych na biodostępność i metabolizm tłuszczów w modelach *in vitro* ”**

Stare przysłowie mówi „Jesteś tym co jesz” co wypada dość groteskowo w kraju, gdzie współczynnik wzrostu nadwagi i otyłości wśród dzieci i młodzieży jest jednym z najbardziej dynamicznych na świecie.

Mając takie problemy, specjaliści w dalszym ciągu skupiają się li tylko na edukacji pacjentów w obszarze poprawnego doboru makro, mikroskładników oraz substancji balastowych w produktach spożywczych. Na co dzień mało kto, spoza środowiska technologów żywności, dietetyków i nielicznych lekarzy- przykłada jakąkolwiek wagę do substancji chemicznych dodawanych do żywności.

Tymczasem coraz więcej prac badawczych wskazuje, że te substancje nie są obojętne dla zdrowia. Także praca mgr Anny Antończyk przynosi dość niepokojące, choć trudne do praktycznej interpretacji wyniki. Doktorantka oceniając wpływ syntetycznych antyoksydantów na biodostępność i metabolizm tłuszczów – włącza się w ten nurt badań. I choć badania *in vivo* są pierwszym krokiem do dalszych badań (w modelu zwierzęcym czy badań z udziałem ludzi) to wyniki tej pracy mogą niepokoić – zwłaszcza w kontekście ewentualnego wpływu tych syntetycznych antyutleniaczy na choroby układu krążenia czy choroby metaboliczne (w tym niealkoholową chorobę tłuszczeniową wątroby).

#### **Oryginalność problemu badawczego**

Uważam, że praca doktorska mgr Anny Antończyk rozwiązuje oryginalny problem badawczy. Wiemy, że dopuszczenie syntetycznych antyutleniaczy do produkcji żywności nie wymaga pogłębionych badań. Oprócz oszacowania dopuszczalnego dziennego spożycia (ADI) dla danego środka chemicznego, nie bada się jego efektów krótko i długoterminowych. Dlatego nadal nie wiemy (choć bardzo podejrzewamy), że część z tych środków chemicznych może działać jak klasyczny obesogen nasilając lipogenezę, syntezę *de novo* tkanki tłuszczowej i

procesy miażdżycowe. Z tego punktu widzenia każde badania, które przybliżają nas do odpowiedzi, dlaczego żywność produkowana przemysłowo jest tak bardzo obesogenna są bardzo cenne. Chcemy mieć jasną odpowiedź na pytanie czy chodzi tylko o nadpodaż kalorii czy też o to dodatkowe działanie syntetycznych obesogenów stosowanych w produkcji.

### **Znaczenie problemu badawczego**

Dużym problemem we współczesnej nauce jest trudny przepływ informacji między specjalistami. Osoby zajmujące się zdrowiem pacjentów żyją w swoich „bańkach” informacyjnych na ogół nie wiedząc jak produkowana jest żywność. Niektóre z opisywanych w tej dysertacji związków, wydają się być mogą być potencjalnie odpowiedzialne za stłuszczenie wątroby. Oczywiście badania *in vivo* trudno jest odnieść bezpośrednio do organizmu ludzkiego, ale uzyskany wynik gromadzenia się trójacyloglicetoli po inkubacji komórek wątroby z TBHO jest bardzo niepokojący. Współcześnie u osób młodych wątroba nie stłuszcza się z powodu nadużywania alkoholu tylko z powodu nadużywania energii. Być może TBHO – stosowany w sieciach fast food (o czym Doktorantka pisze we wstępie) jest częściowo odpowiedzialny za to zjawisko. I choć uzyskane wyniki nie są spójne to stanowią ważny krok w badaniu potencjalnej roli syntetycznych antyutleniaczy w patologii chorób metabolicznych.

### **Oryginalność i trafność metod oraz narzędzi badawczych**

#### **Układ pracy**

Praca ma układ typowy, pierwsza część to wstęp i przegląd literatury, rozdziały są napisane bardzo starannie, dobrą polszczyzną z wystarczającą liczbą cytowań.

Mam parę pytań i wątpliwości dotyczących tej części pracy (wstęp i przegląd literatury)

- a) bardzo przeszkadza układ cytowań, często dodanego po paru zdaniach
- b) brakuje odniesień do występujących w naturze związków fenolowych o charakterze przeciwutleniaczy. Jestem ciekawa efektów końcowych tych cząstek na metabolizm lipidów
- C) str. 24 zdanie (pod koniec strony) ...” Autorzy sugerują, że jest to związane z gromadzeniem trójacylogliceroli w tkance tłuszczowej przy wyższych dawkach BHT „– czy chodzi o aktywację lipogenyzy? Czy proces dotyczy pojawiania się nowych adypocytów o zmienionym prozapalnym fenotypie? Ten wynik bardzo niepokoi a jednocześnie dziwi na tle tak innego metabolizmu TBHQ.
- D) str. 25. Chyba zbyt optymistyczne jest zadanie, że BHT ograniczając syntezę produktów utleniania cholesterolu ogranicza miażdżycę. W kontekście 250% wzrostu zawartości trójacylogliceroli i 40 % syntez *de novo* cholesterolu tak nie można napisać

E) bardzo ciekawa i nie wyjaśniona jest informacja o zamianie profilu syntezowanych kwasów tłuszczowych (u szczurów karmionych BHA) wzroście stężenia PUFA i redukcji SFA. Czy chodzi o aktywację desaturaz przy jednoczesnym zahamowaniu syntetazy?

F) str. 31 to przykład tych wadliwych cytowań – na całą stronę są tylko dwa.

G) str. 32 Mamy białą, brązową i beżową tkankę tłuszczową – Doktorantka pisze dalej o brązowaniu tkanki tłuszczowej – także nie mam wątpliwości, że zna i ten typ tkanki tłuszczowej

**Część cele pracy** – sformułowane prawidłowo, choć zabrakło hipotezy badawczej

**Część doświadczalna**- prawie idealna. Prawie bo zabrakło opisu narzędzi statystycznych, choć przy omawianiu wyników pojawia się nazwa testu.

Bardzo dobrze i drobiazgowo opisana część eksperymentalna. Świetnie zaplanowane doświadczenia i hodowle komórkowe z kontrolą tłuszcz bez utleniaczy) i kontrolą negatywną, gdy do badań był użyty toksyczny dla komórek odczynnik.

Za plus uważam dodanie przez Doktorantkę rycin i schematów pracy z liniami komórkowymi – to bardzo ułatwiło recenzje.

Reasumując: Doktorantka zastosowała szereg metod, które moim zdaniem pozwoliły odpowiedzieć na postawione cele pracy.

Uważam, że Doktorantka:

- określiła rolę przeciwutleniaczy na etapie trawienia – badając aktywność enzymatyczną lipazy trzustkowej,
- scharakteryzowała proces emulgacji i strawności produktu modelowego
- Określiła absorpcję produktów trawienia tłuszczów, a także skrobi i białek w modelu komórkowym Caco – 2
- odtworzyła *in vitro* syntezę lipoprotein, ich budowę, kształt, metabolizm i aktywność enzymów oraz białek regulujących proces metabolizmu chylomikronów i chylomikronów resztkowych (komórki Hep G2).

To ogrom dobrze zaplanowanej i mrówczej pracy. Jako osoba, która pracowała z hodowlą komórek doceniam ten czas pracy i „przywiązanie” do hodowli (często fizyczne - wymuszone pasażami).

**Wyniki i dyskusja**

Uzyskane wyniki nie dają spójnej odpowiedzi dotyczącej bezpieczeństwa stosowania synestetycznych antyoksydantów fenolowych, choć wydaje się, że analizowane antyoksydanty w większości dość głęboko zmieniają metabolizm lipidów.

Praktycznie wszystkie zwiększają wchłanianie tłuszczu z pokarmu – co jest cechą wysoce niepokojącą, a część z nich może wpływać na transport lipidów (lipoprotein w krążeniu) i ich metabolizm.

Bardzo zastanawia wynik przedstawiony na Rys 21- poszczególne antyutleniacze zmieniają wielkość chylomikronów i proporcje zawartych w nich trójacylogliceroli i cholesterolu. W realnym krążeniu taka sytuacja może prowadzić do negatywnych konsekwencji. Lipazy naczyniowe odbierają depozyt lipidów z chylomikronów (podczas jego drogi przez przewód piersiowy i naczynia krwionośne do wątroby). Ich aktywność jest kluczowa dla dalszych losów chylomikronów resztkowych - małe, gęste cząstki remnantów, bogate w lipidy są *de facto* przyczyną miażdżycy. Dlatego wyniki uzyskane dla GD, BHA i GP są bardzo niepokojące (rys 27 i 28). Czy Doktorantka widzi możliwe implikacje kliniczne dla tego wyniku? (zmiany wielkości i zawartości lipidów w chylomikronach w zależności od użytego przeciwutleniacza).

Czy wiadomo jak naturalne fenole (antyutleniacze) zawarte w żywności regulują pobór resztkowych chylomikronów?

Mam też pytanie o CD 36 - to transporter zmiatający obecny głównie na powierzchni komórek biorących udział w progresji miażdżycy monocytów i makrofagów. Mam pytanie o rolę TBHG – jaka może być przyczyna tak skrajnie innego oddziaływania na CD 36 i MTB?

### **Umiejętność krytycznej analizy danych**

Konstrukcja pracy - oceniam na prawidłową. Dużym plusem są ryciny odzwierciedlające metabolizm poszczególnych przeciwutleniaczy.

Rozdziały napisane wyczerpująco, poprawną polszczyzną.

Sposób prezentacji – oceniam na bardzo dobry (pomijając cytowania).

**Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia wymagania z art. 13 ustawy 1 z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U z 2017 r poz.1789).**

Praca jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego, Doktorantka wykazała się dobrą wiedzą dotyczącą zakresu technologii żywności a także umiejętnościami do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Wnoszę do Wysokiej Rady dyscypliny technologii żywności i żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kollątaja w Krakowie o dopuszczenie Anny Antończyk dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej

Z wyrazami szacunku

---

prof. dr hab. n. med. Ewa Stachowicz

Katedra Żywności Człowieka i Mięsoznawstwa  
KIEROWNIK

