

Warszawa, 21 sierpnia 2019

Prof. dr hab. Barbara Pietruszka  
Zakład Podstaw Żywienia  
Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji  
SGGW w Warszawie

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Angeliki Heberlej pt.  
„Ocena spożycia i stanu zaopatrzenia organizmu w witaminę D oraz potencjału  
antyoksydacyjnego u osób zdrowych i chorych na niektóre choroby cywilizacyjne z  
województwa zachodniopomorskiego”**

Wykonanej pod kierunkiem dr hab. Teresy Seidler, prof. nadzw. ZUT  
Na Wydziale Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Instytut Technologiczny w  
Szczecinie

W świetle ostatnich wyników badań, rola witaminy D w organizmie jest znacznie większa niż wcześniej sądzono. Bierze ona udział nie tylko w regulacji gospodarki wapniowo-fosforanowej, ale także ma właściwości immunomodulujące. Wykazano także, że jej niedobory zwiększają ryzyko niektórych chorób nowotworowych (np. prostaty, gruczolę sutkowego, jelita), chorób serca, cu-krzycy typu 1, chorób psychicznych. Wyniki wielu badań epidemiologicznych na świecie wskazują, że niedobory witaminy D dotyczą wielu grup populacyjnych. Do grupy o szczególnym ryzyku niedoborów tej witaminy należą osoby starsze. Przyczyną tego jest m.in. mniejsza skórna synteza witaminy D, co związane jest często z mniejszą ekspozycją na światło słoneczne, spadek syntezy 7-dehydrocholesterolu, ale także schorzenia wątroby i nerek, narządów biorących udział w przekształcaniu witaminy D w formę biologicznie aktywną. Dodatkowo u osób starszych często występują łagodne stany zapalne, mające istotny wpływ na rozwój wielu chorób, w tym nowotworowych, autoimmunologicznych, układu krążenia i in. Biorąc powyższe pod uwagę uważam, że podjęcie przez mgr inż. Angelikę Heberlej badań w zakresie oceny spożycia witaminy D z całodzienną racją pokarmową, stanu odżywienia tą witaminą, oceny stresu oksydacyjnego i aktywności enzymów antyoksydacyjnych u zdrowych i cierpiących na choroby kardiologiczne, nowotworowe i cukrzycę osoby starsze jest uzasadnione, a tematyka bardzo aktualna.

#### **I Dane ogólne o pracy**

Przedstawiona do recenzji praca dyplomowa wykonana została w Zakładzie Podstaw Żywienia Człowieka pod kierunkiem dr hab. inż. Teresy Seidler, prof. nadzw. ZUT w Szczecinie.

Praca doktorska opracowana została w formie manuskryptu i ma układ typowy dla prac badawczych. Obejmuje łącznie 189 stron tekstu wraz z aneksem. Składa się ona z następujących części: Wykaz skrótów (2,5 str.), Wstęp (33 str.), który stanowi obszerny

przegląd piśmiennictwa, Cel (1 str.), Materiał i Metody (7,5 str.), Wyniki (54 str.), Dyskusja (25,5 str.), Wnioski (1,5 str.), streszczenie w języku polskim i angielskim (3 str.). Po spisie treści Doktorantka zamieściła wykaz skrótów stosowanych w pracy, a po streszczeniu w języku angielskim - wykaz tabel i rysunków, które są formą graficzną uzyskanych wyników. Łącznie w pracy zamieszczono 25 tabel oraz 46 rysunków.

W załącznikach zamieszczony został wzór kwestionariusza do badania stylu życia, zwyczajów żywieniowych i spożycia żywności, który został wykorzystany do zbierania danych.

Mgr inż. Angelika Heberlej w dysertacji zacytowała aż 345 pozycji piśmiennictwa, w tym ponad 79% anglojęzycznych. Doktorantka przytoczyła w większości najnowsze piśmiennictwo, tylko 16% było opublikowanych przed 2000 r. Co jest ciekawe trzy pozycje pochodziły z lat 1855, 1922 i 1931. Uważam, że cytowanie oryginalnych publikacji, a nie opieranie się na danych wtórnych, jest godne polecenia.

Układ pracy jest logiczny i przejrzysty. Praca napisana została na ogół poprawnie pod względem językowym i stylistycznym.

## II. Ocena merytoryczna pracy

W tematykę pracy doktorskiej bardzo dobrze wprowadza **Wstęp**, który jest jednocześnie bardzo szczegółowym przeglądem piśmiennictwa. Stanowi on dobre uzasadnienie wyboru tematu rozprawy. Doktorantka w sposób klarowny opisała zagadnienia dotyczące metabolizmu, źródeł witaminy D, następnie roli i mechanizmu jej działania w organizmie, wpływie niedoborów na występowanie chorób układu krążenia, cukrzycy typu 2, nowotworów, chorób autoimmunologicznych oraz zaburzeń psychicznych. Omówine zostały także normy na witaminę D dla populacji polskiej. W ostatnim rozdziale Wstępu Doktorantka zawarła zagadnienia związane ze stresem oksydacyjnym. W opisie tych zagadnień Doktorantka wykazała się dobrą znajomością tematu, uwzględniła najnowsze informacje dotyczące działania witaminy D w organizmie człowieka. Odbiór tematu ułatwia starannie wykonany schemat dotyczący metabolizmu witaminy D<sub>3</sub>. Został on opatrzony adnotacją „opracowanie własne”, co w mojej opinii wymaga uściślenia, na podstawie jakich źródeł schemat został opracowany. Przeredagowania wymaga także fragment z rozdziału 1.2.2. **Źródła egzogenne**, gdzie napisano, że „Ergokalcyferol znajduje się w produktach pochodzenia roślinnego ..... Witaminę D<sub>2</sub> zawierają drożdże, grzyby oraz niektóre suplementy”. Aktualnie grzyby zaliczane są do odrębnego królestwa Grzyby (Fungi).

Drugi rozdział dysertacji obejmuje **cel pracy**. Doktorantka sformułowała 3 hipotezy badawcze, które brzmią:

1. Spożycie witaminy D przez osoby zamieszkałe w województwie zachodniopomorskim może być zbyt niskie, pomimo dobrej dostępności regionu do podstawowego jej źródła – ryb.
2. Niedostateczne spożycie witaminy D z dietą może negatywnie rzutować na stan zaopatrzenia organizmu w ten składnik.

3. Może występować zależność pomiędzy stężeniem witaminy D w surowicy krwi a poziomem stresu oksydacyjnego i aktywnością enzymów antyoksydacyjnych w badanych grupach chorych z cukrzycą, nadciśnieniem tętniczym i chorobą nowotworową.

Ze względu na to, że badanie nie obejmuje reprezentatywnej grupy osób dla województwa zachodniopomorskiego, pierwsza hipoteza powinna odnosić się (podobnie jak hipoteza trzecia) tylko do grupy osób badanych.

Dla weryfikacji sformułowanych hipotez wyznaczono szczegółowe 4 zadania, które wg mnie są sformułowane prawidłowo.

W następnej części manuskryptu pt. „**Materiał i metody**” Doktorantka przedstawiła prosty schemat przeprowadzonego badania. Sposób badania zaplanowany został prawidłowo, według schematu badania przekrojowego (*cross-sectional study*). Taki układ badania sprawia, że analiza związku przyczynowo-skutkowego (np. wpływu spożycia wit. D na wystąpienie stresu oksydacyjnego) może być obarczona dużym błędem. Słusznie więc Doktorantka w dalszej części pracy ograniczyła się w do analizy związku między badanymi czynnikami.

W podrozdziale „**Charakterystyka badanych grup**” mgr inż. Angelika Heberlej podała informacje o sposobie rekrutacji osób do badania. Z przedstawionych danych wynika, że w grupie osób zdrowych znalazły się osoby młodsze niż w grupach chorych, zarejestrowanych w poradni kardiologicznej, diabetologicznej i onkologicznej. Dobrze byłoby, żeby Doktorantka skomentowała ten fakt w świetle danych wskazujących, że w miarę starzenia się organizmu pojawiają się łagodne procesy zapalne, co może mieć wpływ na wynik badania dotyczący poziomu stresu oksydacyjnego. Przy opisie doboru osób do badania zabrakło informacji, w jaki sposób oceniona została niezbędna wielkość próby (liczba osób badanych) oraz które cechy były brane pod uwagę przy jej wyliczaniu.

W mojej opinii uszczegółowienia wymaga następny podrozdział „**Ocena sposobu żywienia**”. Nie budzą wątpliwości zastosowane metody zbierania danych, jednak sposób ich opracowania jest zbyt lakoniczny. Brakło informacji o sposobie analizy danych dotyczących:

1. stosowania suplementów diety (rodzaj preparatu, zawartości składników, dziennych dawek, itp.) – jest to bardzo istotne, ponieważ suplementy diety zawierają znaczące ilości składników odżywczych, mają więc duży wpływ na stan odżywienia organizmu, w tym wit. D i związkami o właściwościach przeciwutleniających,
2. opisu programu komputerowego „Aliant”, wykorzystanego do analizy wartości odżywczej analizowanych całodziennych racji pokarmowych – jakie bazy danych zawartości składników odżywczych w produktach żywnościowych wykorzystywane są w tym programie, czy w analizie uwzględnione zostały nieuniknione straty technologiczne i kulinarne. Jest to o tyle istotne, że polska baza danych nie zawiera informacji dla witaminy K i selenu, a składniki te były w pracy analizowane,
3. sposobu porównania wartości energetycznej CRP oraz ilości spożywanych składników odżywczych z obowiązującymi aktualnie normami, wiadomo, że normy ustalone zostały dla osób zdrowych, a więc ich interpretacja w odniesieniu do osób chorych powinna być przeprowadzona ostrożnie.

4. informacji dotyczących sprzętu wykorzystywanego do pomiarów antropometrycznych, dokładności pomiarów (jakiej firmy sprzęt, warunki przeprowadzenia pomiarów).

Opis metodyki pomiarów biochemicznych nie budzi żadnych zastrzeżeń. Natomiast zbyt lakonicznie potraktowany został podrozdział „**Analiza statystyczna wyników**”. Dokładniejszego opisu wymagają stosowane testy statystyczne, np. w ocenie istnienia rozkładu normalnego, rodzaju stosowanych testów dla wyznaczenia współczynników korelacji między aktywnością enzymów antyoksydacyjnych a występowaniem danej choroby, itp.

Następny rozdział obejmuje opis **wyników badania**, które przedstawione zostały w logicznej kolejności i na ogół w sposób przejrzysty. W rozdziale tym Doktorantka bardzo szczegółowo scharakteryzowała osoby badane w podziale na grupy osób zdrowych i chorych na choroby układu krążenia, cukrzycę i nowotwory. Charakterystyka obejmuje rozkład cech w poszczególnych grupach osób, takich jak płeć, miejsce zamieszkania, wykształcenie, liczba osób w gospodarstwie domowym, liczba osób niepełnoletnich w gospodarstwie domowym, sytuacja finansowa, aktywność zawodowa, samoocena stanu zdrowia, samoocena wiedzy żywieniowej, samoocena sposobu żywienia. Wyniki przedstawione zostały w formie wykresów słupkowych. Szkoda, że Doktorantka nie przedstawiła na tych wykresach analizy statystycznej wyników. Ocena stanu odżywienia badanych osób przeprowadzona została na podstawie danych z pomiarów antropometrycznych. W tabeli 6 przedstawiono wartości średnie dla wieku, masy ciała, wzrostu, BMI, obwodu talii, obwodu bioder i WHR. Średnia wieku dla osób z grupy zdrowych (mediana 39 lat) jest znacząco niższa niż dla pozostałych grup (mediana od 66 do 71 lat), komentarz do tego zamieściłam już wcześniej. Ponadto uważam, że ze względu na naturalne różnice w budowie ciała między kobietami i mężczyznami oraz istniejące inne wartości referencyjne dla obwodu talii i wartości parametru WHR, wskazana byłaby oddzielna analiza dla poszczególnych płci. Dla samej charakterystyki badanych osób obejmuje analizę zwyczajów żywieniowych i stylu życia osób badanych, obejmującą liczbę spożywanych posiłków, odsetki osób spożywających posiłki o stałych porach, częstotliwość pojadania i rodzaju produktów wybieranych jako przekąski, rodzaje spożywanych produktów z poszczególnych grup itp., ocenę aktywności fizycznej, biernego sposobu spędzania czasu, liczbę godzin snu, palenie tytoniu, spożywanie alkoholu, stosowanie diety, leków, suplementów diety. Szczegółowej analizie poddano wartość energetyczną CRP oraz zawartość składników odżywczych w dietach poszczególnych grup osób. Oceniono także stopień realizacji normy. Dla niektórych składników odżywczych normy dla kobiet i mężczyzn różnią się, uzasadniona byłaby więc oddzielna analiza dla każdej z płci. Analiza statystyczna w tabelach z wynikami w tym zakresie przedstawiona została bardzo klarownie. Dobrze byłoby jednak podać, jakiego rodzaju testy statystyczne zostały zastosowane, a także wyjaśnienie skrótów – zgodnie z zasadą, że tabele powinny być dobrze rozumiane bez konieczności czytania tekstu (dotyczy to wszystkich tabel w pracy). Niepokojące wyniki uzyskała Doktorantka dla witaminy K oraz Se. Dla składników tych w wielu przypadkach stwierdziła Ona, że były nieobecne w CRP, co wymaga wyjaśnienia. Jak już

wcześniej wspomniałam polskie bazy nie zawierają danych dla tych składników. Wyjaśnienia również wymaga informacja o przekroczeniu dawki UL dla witaminy A (dawka UL wyznaczona jest dla formy retinolowej i estrów retinolu).

W następnej części wyników przedstawione zostały dane dla analiz biochemicznych stężenia witaminy D (formy 25(OH)D) w surowicy krwi, aktywności katalazy, erytrocytarnej dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy glutationowej, dialdehydu malonowego oraz przeprowadzono analizy korelacji stężenia witaminy D we krwi a wybranymi czynnikami. Tabele i wykresy, podobnie jak w poprzedniej części wyników powinny być bardziej szczegółowo opisane – jakiego rodzaju test został zastosowany do badania korelacji. Zwrócić uwagę też należy na stopień dokładności podawanych liczb (liczba miejsc po przecinku), zarówno w tabelach, jak i w tekście.

Ze względu na to, że wiele przedstawionych w pracy czynników może mieć istotny wpływ na status oksydacyjny organizmu, poddaję do rozważenia przeprowadzenie bardziej złożonych wieloczynnikowych analiz, które pozwoliłyby na kompleksową ocenę wpływu sposobu żywienia na stan odżywienia organizmu witaminą D oraz występowanie stresu oksydacyjnego i wykorzystanie ich do przygotowania publikacji w przyszłości

Przeprowadzona przez Doktorantkę **dyskusja wyników** świadczy o Jej umiejętności porównywania wyników własnych z wynikami innych autorów. Mgr inż. Angelika Heberlej w rozdziale tym wykorzystwała zarówno piśmiennictwo polskie, jak i ogólnoświatowe. Dyskusja przeprowadzona jest ciekawie, zawiera nie tylko porównanie z innymi badaniami, ale także odpowiednie komentarze do wyników własnych. Stanowi ona mocną stronę recenzowanej dysertacji. Drobne błędy w sformułowaniach, np. śmiertelność zamiast umieralność, spożycie energii zamiast wartość energetyczna, nie mają wpływu na wartość merytoryczną pracy.

Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka wyciągnęła 13 wniosków. W mojej opinii wnioski te są raczej stwierdzeniami i sugerują podjęcie próby wyciągnięcia ogólnego wniosku oraz odniesienia się do założonych na początku rozprawy hipotez badawczych.

#### **IV Wniosek końcowy**

Pomimo krytycznych uwag, głównie dotyczących opisu metodyki stosowanej w pracy, przedstawioną do recenzji pracę **Pani mgr inż. Angeliki Heberlej pt. „Ocena spożycia i stanu zaopatrzenia organizmu w witaminę D oraz potencjału antyoksydacyjnego u osób zdrowych i chorych na niektóre choroby cywilizacyjne z województwa zachodniopomorskiego”** oceniam pozytywnie. Biorąc pod uwagę powszechność problemu niedoboru witaminy D w organizmie człowieka, szczególnie osób starszych, wybór tematu uważam za uzasadniony, a praca świadczy o umiejętności Doktorantki do formułowania celów badania, jak również analizy uzyskanych wyników. Doktorantka wykazała się dobrą znajomością tematu, zrealizowała założone cele pracy, umiejętnie przedyskutowała wyniki. Posumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska **Pani mgr inż. Angeliki Heberlej pt. „Ocena spożycia i stanu zaopatrzenia organizmu w witaminę D oraz potencjału antyoksydacyjnego u osób zdrowych i chorych na niektóre choroby cywilizacyjne z województwa**

**zachodniopomorskiego**” jest oryginalnym rozwiązaniem zagadnienia naukowego, wskazuje na opanowanie przez Doktorantkę wiedzy teoretycznej oraz umiejętność prowadzenia pracy naukowej, tym samym spełnia merytoryczne i formalne wymogi stawiane rozprawom naukowym na stopień naukowy doktora. Wniosuję zatem do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorskiego Instytutu Technologicznego w Szczecinie o przyjęcie pracy i dopuszczenie Pani **mgr inż. Angeliki Heberlej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Barbara Pietruszka