

Poznań, 28-08-2019

dr hab. Magdalena Człapka-Matyasik
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Instytut Żywienia Człowieka i Dietetyki
ul. Wojska Polskiego 31; 60-624 Poznań
magdalena.matyasik@up.poznan.pl

Recenzja

Rozprawy doktorskiej mgr Angeliki Niny 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 w Zakładzie Podstaw Żywienia Człowieka, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu
Technologicznego w Szczecinie**

Pod kierunkiem dr hab. Teresy Seidler, prof. nadzw.

Podstawa prawna: Ustawa z dnia 14 marca 2003r. 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.).

Podstawą opracowania oceny jest:

- pismo Pani Dziekan Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwie Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie – dr hab. inż. Agnieszki Tórz, prof. ZUT (L.Dz. WNoŻiR 134/2019), która na wniosek Rady Wydziału zwróciła się z prośbą o opracowanie oceny ww. pracy doktorskiej;
- praca doktorska mgr Angeliki Niny Heberlej .

Informacje ogólnie

Struktura pracy jest typowa dla prac eksperymentalnych, z zachowaną właściwą kolejnością rozdziałów i nieco zachwianymi proporcjami. Rozprawa doktorska liczy 189 stron, w tym 33 strony piśmiennictwa, zawierającego 345 pozycji oraz 18 stron załączników. Praca zawiera 46 rycin, 25 tabel. Układ przedstawionego opracowania obejmuje wstęp z przeglądem literatury (ok.21%), cel pracy,

materiał i metody (ok.4%), wyniki (ok. 30%), dyskusję (ok.14%), wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim. Na początku pracy zamieszczono wyczerpujący spis skrótów.

U podstaw koncepcji rozprawy doktorskiej mgr Angeliki Heberlej znajdują się istotne kwestie związane z niedoborami witaminy D, dietoterapią, stresem oksydacyjnym u chorych cierpiących na choroby cywilizacyjne. Problemy niedoboru witaminy D i jego skutków stanowią ważny, nasilający się w ostatnim dziesięcioleciu problem epidemiologiczny. Pomimo iż diagnostyka niedoborów tej witaminy jest dość powszechnie wykorzystywana, suplementacja zalecana często, problem wydaje się być wciąż nie rozwiązany. Dlatego też podjęcie badań z zakresu oceny spożycia i zaopatrzenia organizmu w witaminę D, przy jednoczesnej ocenie poziomu stresu oksydacyjnego i potencjału antyoksydacyjnego organizmu a także poszukiwania wzajemnych zależności pomiędzy wysyceniem organizmu witaminą D a mechanizmami antyoksydacyjnymi organizmu stanowią bardzo ważne, nie poruszone dotąd zagadnienie.

Pani mgr Angelika Heberlej w części literaturowej dysertacji wyjaśniła opisane już w piśmiennictwie mechanizmy wzajemnych zależności pomiędzy stężeniem egzogennej i endogennej witaminy D, mechanizmami jej syntezy i związku ze stresem oksydacyjnym w organizmie. Autorka opisała także pleiotropowe działanie witaminy D w przypadku chorób cywilizacyjnych. W ostatnim rozdziale części literaturowej uzasadnia ostatecznie celowość podjętego tematu.

Autorka w pracy używa sformułowania „ocena stresu oksydacyjnego w oparciu o stężenie MDA oraz badanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych: CAT, SOD, GSH-Px”. O ile z pierwszą częścią sformułowania „ MDA (malonyldialdehydu) jako marker stresu oksydacyjnego” należy się zgodzić gdyż jest on głównym produktem peroksydacji WNKT i można uznać go za biologiczny marker stresu oksydacyjnego, to stężenie enzymów i działaniu antyoksydacyjnym w organizmie należałoby uznać za markety potencjału antyoksydacyjnego. Ich aktywność świadczy o gotowości/zaawansowaniu do przeciwdziałania i obniżania poziomu stresu oksydacyjnego nie o jego skutkach w organizmie. Innymi słowy niższe stężenie MDA może oznaczać niższy poziom stresu oksydacyjnego, wyższe stężenie enzymów antyoksydacyjnych działania organizmu zmierzające do obniżenia poziomu stresu oksydacyjnego, uzależnione od wielu czynników tj. stan zaawansowania choroby, leczenia, dieta etc.

Merytoryczna ocena pracy

Zarówno tytuł pracy, który obejmuje jej zakres, jak i cel, zostały przedstawione precyzyjnie i łączą się w logiczną całość z wcześniejszym przeglądem piśmiennictwa, pozwalają na weryfikację postawionej hipotezy. Wybór tematu badawczego świadczy o zorientowaniu Doktorantki w wiodących problemach dieto-terapeutycznych oraz celowości podejmowania badań nad uwarunkowaniami żywieniowymi i możliwością poprawy poziomu stresu oksydacyjnego u badanych z chorobami cywilizacyjnymi.

Cały przebieg badania, dobór i liczebność próby do badań, Autorka zilustrowała schematem ryc. 4 i 5, które niestety dublują się treścią, ułatwiają jednak zrozumienie przebiegu badania i schemat postępowania z pacjentem. Czy przed rozpoczęciem badań kalkulowano minimalną ilość próby? Proszę o ew. uzupełnienie tej informacji podczas publicznej obrony. Przebieg badań zaplanowanych przez Doktorantkę miał charakter głównie korespondencyjny (kwestionariusze wypełniane droga pocztową), większość danych Doktorantka uzyskała na podstawie historii leczenia pacjenta. Jak podano w części metodycznej „Wśród badanych dokonano pomiarów antropometrycznych – masy ciała, obwodu talii i bioder”.

W części metodycznej pracy brak jest wyczerpującej i jednoznacznej informacji o metodyce oceny sposobu żywienia i kalkulacji uzyskanych rezultatów. Proszę by Doktorantka podczas publicznej obrony podała informacje na temat walidacji wspomnianego „autorskiego” kwestionariusza, gdyż nie znalazłam jej w tekście pracy, a także o wyjaśnienie jak doprecyzowano wielkość porcji podawaną przez respondentów, gdyż jest to zwykle praca wymagająca doświadczenia dietetyka, wiele zaangażowania, bezpośredniego kontaktu z pacjentem i praktycznych umiejętności.

Autorka w sposób wyczerpujący opisuje charakterystykę społeczno-demograficzną badanych grup, niemniej jednak rozdział ten w przekonaniu recenzenta wymaga uzupełnienia o analizę Chi kwadrat weryfikującą hipotezę na temat rozłożenia poszczególnych cech w grupach co potencjalnie mogło przekładać się na dalsze wyniki badań. Takie różnice pomiędzy oceną sytuacji ekonomicznej w gospodarstwie domowym (ryc. 11) widoczne są np. pomiędzy grupą osób zdrowych i pacjentów onkologicznych czy miejscem zamieszkania a przynależnością do grupy zdrowej lub pacjentów onkologicznych. Nie jest zrozumiałe dlaczego w rozdziale na temat socjo-demograficznych cech grupy umieszczono analizę samooceny sposobu żywienia się badanych. To wartościowy, z punktu widzenia zachowań żywieniowych fragment pracy, który daje możliwość analizy zachowań żywieniowych badanych respondentów.

Analiza części wynikowej pracy wskazuje, że Doktorantka do oceny sposobu żywienia wykorzystwała m.in. metodę częstotliwości spożycia jaką przeprowadzono kwestionariuszem FFQ. W części metodycznej nie opisano jednak wspomnianej metody ani też sposobu kalkulacji zebranych z jej wykorzystaniem danych. Respondenci byli proszeni o odpowiedź na pytanie z jaką częstotliwością spożywają wybrane grupy produktów spożywczych. Dane zebrane przez Doktorantkę mają format danych jakościowych, a pytania są „pytaniami-skalami” z rosnącą częstotliwością spożycia od „nigdy” do „kilka razy w ciągu dnia”. Wspomnianych sześć kategorii częstotliwości spożycia żywności winno być przekształconych na dzienną krotność spożycia, w której odpowiedź „Raz w tygodniu” oznacza 0,14 dziennej częstotliwości spożycia. Dałoby to Pani mgr Heberlej możliwość obiektywnego porównania spożycia dziennego omawianych grup produktów spożywczych zgodnego z uznaną i zwalidowaną metodyką znanych już kwestionariuszy FFQ i wykonanie analiz statystycznych.

Procedurę tę łącznie z walidacją i oceną powtarzalności (Nutrients 2018) przykładami analizy spożycia i kalkulacją wskaźników diety prozdrowotnej i niezdrowej opisano wyczerpująco w piśmiennictwie i opublikowano przez Zespół Behawioralnych Uwarunkowań Żywienia, Komitetu Nauki o Żywieniu Człowieka, Polska Akademia Nauk. Proponowałabym by publikując wyniki w przyszłości Doktorantka podjęła się takiej analizy wyników, gdyż stwarza ona wiele możliwości interpretacji, jak również porównania z piśmiennictwem światowym.

W części metodycznej umieszczono informację, że uczestnicy wypełniali formularze drogą korespondencyjną i „byli proszeni o spisanie swojego jadłospisu z 24h metodą bieżącego notowania”. Metoda bieżącego notowania i wywiad z ostatnich 24h to dwie różne metody, obarczone inną dokładnością, wymagające innego sposobu określania spożytej żywności, najczęściej wymagające weryfikacji w obecności respondenta zamieszczonych/spisanych w nich informacji, w tym wielkości porcji. Ponadto sformułowanie „wywiad o spożyciu z 24 godzin” jest w piśmiennictwie określane jako „wywiad o spożyciu z ostatnich 24 godzin” – umiejscowienie w czasie w przypadku rozmowy z respondentem ma istotne znaczenie przy określaniu umiejscowienia czasowego i określenia dokładności i wiarygodności badania. Jeśli był to wywiad 24h w pracy brak jest informacji jakich i ilu dni dotyczył, gdzie się odbywał? (np. w szpitalu, domu respondenta) Proszę by podczas publicznej obrony Doktorantka doprecyzowała w jaki sposób oceniono spożycie i weryfikowano wielkość porcji za pomocą „Albumu Fotografii Produktów i Potraw” i jakiej ostatecznie metody użyto podczas oceny spożycia.

Proszę też o uzupełnienie danych źródłowych dotyczących ostatecznej oceny sposobu żywienia programem Aliant (przyjęta lista strat podczas obróbki technologicznej, wersja tabel składu i wartości odżywczej produktów spożywczych, czy korzystano tylko z tabel polskich?).

Nie jest niezbędnym przedstawianie w pracy wzorów na obliczenia BMI lub WHR. Warto podkreślić, że w świetle doniesień literaturowych cenniejsze byłoby wykorzystanie wskaźnika WHtR w celu oceny ryzyka sercowo-naczyniowego badanych.

W sposób wyczerpujący w części wynikowej opisano metodykę oznaczeń MDA i enzymów o działaniu antyoksydacyjnych. W pracy brak jedynie nazw zestawów komercyjnych z ich numeracją (np. RANDOX czy inne) jakich zapewne Doktorantka użyła podczas oznaczeń. Będą niezbędne podczas publikacji wyników.

Doktorantka w sposób prawidłowy przeprowadziła analizy statystyczne, drobne sugestie dotyczące χ^2 zamieściłam już wcześniej. Proszę o wyjaśnienie kwestii normalności rozkładu analizowanych wyników, ponieważ w wielu tabelach i rycinach użyto charakterystyki zmiennych przypisanej danym o rozkładzie normalnym i odbiegających od rozkładu normalnego jednocześnie (np. średnia i mediana). Jaki rozkład ostatecznie miały uzyskane dane?

Poza błędami dotyczącymi oceny sposobu żywienia ocenionego metodą FFQ, opisanymi wcześniej, w sposób prawidłowy i skrupulatny oceniono spożycie uzyskane, jak wynika z przedstawionych rezultatów, za pomocą metody bieżącego notowania, uwzględniając zalecenia oceny spożycia porównano otrzymane wartości z obowiązującymi normami na poziomie AI lub EAR i RDA, kategoryzując dane ze względu na odsetek powyżej/poniżej opisywanych poziomów. Proszę o wyjaśnienie czy doktorantka podczas analizy spożycia, poziomów AI, EAR i RDA uwzględniała modyfikacje w zaleceniach spożycia związane ze specyfiką jednostki chorobowej (np. cholesterol vs choroby kardiologiczne).

Interesujące z punktu widzenia novum poznawczego pracy są dane na temat współzależności:

- a) pomiędzy poziomami witaminy D a wybranymi czynnikami, za jakie doktorantka uznała powikłania zdrowotne na tle kardiologicznym, diabetologicznym i onkologicznym.
- b) Pomędzy aktywnością (poziomami aktywności) enzymów o działaniu przeciwutleniającym a występowaniem danej choroby.

Przeprowadzona analiza korelacji rank Spearmana wymagała skategoryzowania danych w rangi. Proszę Doktorantkę o wyjaśnienie jakie rangi przyjęto w przypadku jednostek chorobowych (kardiologiczna, diabetologiczna, onkologiczna, grupa zdrowa) oraz jakie rangi zastosowano w przypadku poziomów witaminy D? Czy były to ustalone poziomy referencyjne, zgodne z tabelą 20., kwartyle pokazane w tabelach, czy inne? Dlaczego nie uwzględniono w analizie grupy kontrolnej? Proszę też o analogiczne o wyjaśnienie jakie rangi aktywności poszczególnych enzymów przyjęto do analizy współzależności występowania jednostki chorobowej i aktywności wspomnianych enzymów. Czy były to przyjęte umownie poziomy zalecane enzymów (nie znalazłam ich w pracy), czy poziomy kwartyli?

Wyniki ukazują interesujące różnice pomiędzy badanymi grupami, korelacjami, jednak ze względu na ograniczoną ilość danych na temat historii choroby, etapu leczenia, rodzaju terapii jakie wpływają na poziom stresu oksydacyjnego i potencjału antyoksydacyjnego organizmu wnioskowanie jest utrudnione. Np. pacjenci z chorobami kardiologicznymi przyjmują często statyny, mające działanie antyoksydacyjne. Czy doktorantka posiada bliższe dane na temat czasu trwania choroby, typu leczenia respondentów.

Z obowiązku recenzenta poproszę jednak Doktorantkę o próbę wnioskowania i konkluzji na temat wspomnianych interesujących współzależności, ponieważ ich poziomy wskazują na wyraźne zależności i korzystny bądź też nie, wpływ stężenia witaminy D w niwelowaniu stresu oksydacyjnego w badanych grupach. Stawiam pytanie jakie wnioski nasuwają uzyskane w rozdziale 4.6 i 4.7 rezultaty dodatnich i ujemnych korelacji, opisanych w omówieniu wyników?

W rozdziale 4.7 omówiono korelacje pomiędzy stężeniem 25(OH)D a występowaniem omawianych chorób i innych czynników tj. wiek, pomiary antropometryczne czy sposób żywienia. Czy

przedstawione w tabeli 26. korelacje szacowano także za pomocą korelacji rank Spearmana? W tabeli 26. wskazano na istotną rolę suplementacji na stężenie witaminy D we wszystkich jednostkach chorobowych. W pracy brak jest jednak danych o suplementacji, jej czasie trwania, wysokości dawek u badanych. Proszę o wyjaśnienie podczas publicznej obrony tej kwestii.

W dyskusji wyników autorka omówiła kluczowe rezultaty badań omawiając spożycie i wskazując ewentualne nieprawidłowości.

Z obowiązku recenzenta przytaczam kilka przykładów błędów edytorskich jakich korekta może ułatwić dalsze publikowanie rezultatów:

- Zdublowano dane zamieszczone w tabeli 19. i rycinie 42. (stężenia witaminy D w poszczególnych grupach badanych).
- Sformułowanie „enzymy, które zwalczają wolne rodniki” winno być w pracy zastąpione precyzyjnym określeniem mechanizmu działania poszczególnych enzymów. Wiadomo bowiem, że istnieje kilka mechanizmów ich działania i reagowania podczas obrony antyoksydacyjnej tj. neutralizowanie, usuwanie produktów reakcji, blokowanie substratów.
- Sformułowanie „ilością MDA” należy zastąpić określeniem „stężenie MDA”

Niezależnie od przytoczonych uwag i komentarzy chciałam podkreślić, że praca obejmuje swoim zakresem szeroką problematykę badań od podaży i spożycia witaminy D po jej potencjalny wpływ na regulację układu redox w organizmie. Doktorantka podjęła się analizy i interpretacji zagadnień na pograniczu dietoprofilaktyki i dietoterapii pacjentów z chorobami cywilizacyjnymi, wykazała się umiejętnością współpracy z szeroką grupą pacjentów, umiejętnością wnioskowania i krytycznego analizowania wyników.

Odnosząc się do przeprowadzonych antek badań, a także niezależnie od ogólnie pozytywnej oceny pracy proszę Doktorantkę o ustosunkowanie się/dyskusję do powyższych kwestii podczas obrony publicznej.

Wniosek końcowy

Zaprezentowane ostateczne stwierdzenia i wnioski końcowe są interesujące z punktu widzenia poznawczego jak a problem badawczy podjęty przez Doktorantkę ma ważne znaczenie naukowe, duży potencjał eksploracyjny i realne zastosowanie dietoterapii i bilansowaniu podaży witaminy D, zarówno osób zdrowych jak i cierpiących na choroby cywilizacyjne.

Wszystkie przytoczone powyżej w tekście recenzji uwagi wynikają z moich jako recenzenta wątpliwości oraz pytań do dyskusji w trakcie obrony pracy i nie wpływają w żaden sposób na moją opinię na temat dobrego poziomu merytorycznego pracy doktorskiej.

Niniejszym po zapoznaniu się z przedstawioną do oceny pracą doktorską mgr Angeliki Niny Heberlej stwierdzam, że w pełni spełnia ona wszelkie 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. W związku z powyższym wnoszę do wysokiej Rady Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwie Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie Pani mgr Angeliki Niny Heberlej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

A handwritten signature in blue ink, reading "Magdalena Mętyka". The signature is written in a cursive style and is positioned on the right side of the page.