

Poznań, 10.06.2008

dr hab. Małgorzata Szumacher-Strabel
Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Korniluk

na temat: Profil kwasów tłuszczowych i wybranych pierwiastków u szczurów i owiec żywnionych paszą z dodatkiem selenu, cynku i witaminy E lub izomerów sprzężonego kwasu linolowego

Tematyka badawcza przedstawionej do oceny pracy doktorskiej dotyczy wpływu izomerów sprzężonego kwasu linolowego oraz selenowego preparatu drożdżowego podawanych w dietach dla szczurów na skład i koncentrację kwasów tłuszczowych w poszczególnych tkankach i narządach, a także, w drugiej części badań na owcach, ocenę efektu podania *per os* witaminy E, Zn i Se na koncentrację kwasów tłuszczowych oraz niektórych makroelementów w wątrobie i mięśniu najdłuższym grzbietu. Szczególną uwagę zwrócono na skład i wzajemne proporcje izomerów sprzężonego kwasu linolowego (CLA, ang. *conjugated linoleic acid*) u obydwóch gatunków zwierząt, a także na czynniki mogące uchronić izomery przed unieczynnieniem.

Celem przeprowadzonych w ramach dysertacji doktorskiej doświadczeń było określenie możliwości wpływu zastosowanych dawek pokarmowych na wartość prozdrowotną produktów pochodzenia zwierzęcego. Koncentracja oraz wzajemne proporcje kwasów tłuszczowych nasyconych oraz nienasyconych, a także poziom sprzężonych izomerów kwasu linolowego, są czynnikami poprawiającymi wartość produktów zwierzęcych, istotną z punktu widzenia konsumenta.

Poruszana w rozprawie doktorskiej tematyka związana z poziomem nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz ich izomerów w poszczególnych tkankach i narządach zwierząt nie jest nowa, *novum* pracy stanowi analiza jednoczesnego wpływu CLA oraz Se u szczurów, a także Zn, Se oraz witaminy E u owiec.

Do 1987 roku sprzężony kwas linolowy znajdował się jedynie w obszarze zainteresowania mikrobiologów żwacza, którzy badali izomer *c9 t11* powstający jako produkt pośredni w procesie biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu. W 1987 roku Ha wraz z zespołem opublikowali pracę, której wyniki dowodziły, że CLA powstający w wyniku izomeryzacji kwasu linolowego jest efektywnym inhibitorem powstawania nowotworów u myszy. Od tego czasu poznano wiele dalszych biologicznych oraz fizjologicznych funkcji zarówno izomeru *c9 t11*, jak i *t10 c12*, wskazujących często na różnice w ich sposobie działania. Większość danych dotyczących właściwości poszczególnych izomerów CLA uzyskano w badaniach na zwierzętach, bądź w badaniach kultur tkankowych. Pomimo braku jednoznacznie pozytywnych efektów, potwierdzonych w badaniach na ludziach, działania poszczególnych izomerów kwasu linolowego mogą przynieść korzystne efekty objawiające się zmniejszeniem ryzyka proliferacji komórek nowotworowych, obniżeniem poziomu niskocząsteczkowych lipoprotein (LDL) oraz obniżeniem wzajemnego stosunku lipoprotein nisko i wysokocząsteczkowych, a tym samym zmniejszeniem ryzyka rozwoju miażdżycy tętnic, wzrostem poziomu białka odkładanego w organizmie i zwiększeniem przy tym masy mięśniowej, obniżeniem ogólnej zawartości tłuszczu gromadzonego w organizmie, zmniejszeniem insulinooporności i poprawą tolerancji glukozy, a także stymulacją funkcjonowania systemu immunologicznego. Podjęcie zatem przez autorkę tematyki badawczej dotyczącej określania profilu kwasów tłuszczowych i wybranych pierwiastków u owiec i szczurów było w pełni uzasadnione.

Przedłożona do oceny praca mgr Katarzyny Korniluk stanowi obszerne, bardzo dobrze udokumentowane opracowanie. Z obowiązku recenzenta przedstawię charakterystykę poszczególnych jej rozdziałów oraz drobne uchybienia.

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Korniluk, która liczy 191 stron wraz z 72 tabelami została przedstawiona w następujących rozdziałach: Wstęp, Przegląd

literatury, Hipoteza badawcza i cele naukowe pracy, Materiał i metody, Wyniki doświadczeń, Dyskusja wyników, Najważniejsze wyniki i wnioski, Streszczenie.

We *Wstępie* pracy autorka przedstawiła uzasadnienie podjęcia badań nad możliwością wzbogacenia diety w izomery CLA oraz zwiększenia ich koncentracji w tkankach i narządach zwierząt. Brakuje jednak próby ekonomicznego uzasadnienia celowości podjętych badań.

W *Przeglądzie literatury* autorka w sposób obszerny, a zarazem zwięzły i logiczny przedstawiła najnowsze osiągnięcia naukowe dotyczące budowy i znaczenia izomerów sprzężonego kwasu linolowego, selenu, aminokwasów oraz fizjologicznej roli związków mineralnych: Ca, Mg, Cu, Fe i Zn. W sposób dojrzały wykazała wzajemne zależności w ich działaniu. Nie ustrzegła się drobnych nieścisłości. W rozdziale 2.1.1. dotyczącym struktury chemicznej i źródła izomerów CLA, opisując proces biouwodowania nienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu doktorantka wskazuje na niewielki udział pierwotniaków w tym procesie. Ostatnie prace z 2008 roku (np. Jenkins i wsp.: Board invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.* 86: 397-412) wskazują jednoznacznie na brak udziału pierwotniaków. Pierwotniaki są jedynie doskonałym źródłem nienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym izomerów *c9 t11* C18:2 oraz *t11* C18:1, pochodzących z trawionych bakterii. Według Jenkinsa i wsp. pierwotniaki wykazują preferencje we wbudowywaniu *c9 t11* C18:2 oraz *t11* C18:1. Wykazując szczególną rolę izomerów *t10* C18:1 oraz *t10 c12* C18:2 w repartycji białka i tłuszczu w organizmie autorka nie wspomina o teoriach związanych z obniżeniem syntezy tłuszczu mleka. W rozdziale 2.1.2.3. opisując przeciwnowotworowe działanie CLA, cytując dostępną literaturę, autorka nie precyzuje który z izomerów, lub jaka mieszanina jest odpowiedzialna za uzyskany efekt. Zamieszczone w tym rozdziale na stronie 13 (2-5 wiersz) zdanie wydaje być niekompletne. Omówienie innych właściwości CLA (rozdział 2.1.2.4.) wymaga często doprecyzowania (który izomer), tak jak ma to miejsce w odniesieniu własności oksydacyjnych.

Przedstawiona w rozdziale 2.3.2. zawartość wybranych aminokwasów w żywności jest bardzo uboga, a zamieszczona tabela 2 bezwzględnie wymaga omówienia.

W rozdziale 2.4.1. omawiając poziom wapnia w organizmie autorka cytuje pracę Ziemańskiego. Autor cytowanej publikacji nazywa się Ziemiański (369 pozycja w spisie literatury).

Hipoteza badawcza i cele naukowe pracy zostały precyzyjnie określone i nie budzą wątpliwości.

Rozdział *Material i metody* stanowi bardzo szczegółową i obszerną dokumentację. Na szczególne podkreślenie zasługują bardzo różnorodne i nowoczesne metody analityczne wykorzystywane do realizacji postawionych celów. Ośrodek, w którym doktorantka realizowała pracę doktorską jest znany z wprowadzania doskonałych metod analitycznych publikowanych w renomowanych czasopismach. Rodzi się w tej sytuacji pytanie w jakim zakresie doktorantka uczestniczyła w ich wykorzystywaniu i jaki zakres wykonanych analiz jest jej autorstwa?

W tabeli 3 na stronie 39 przedstawiając układ doświadczenia przeprowadzonego na szczurach autorka zamieściła 'ilość' zwierząt podając ich sztuki. Sugeruję jednak podać ich liczbę. W opisie doświadczenia przeprowadzonego na owcach nie podano wartości pokarmowej zastosowanej dawki pokarmowej w żadnym systemie normowania, co w przypadku publikowania wyników wymaga bezwzględnego uzupełnienia.

Wyniki zostały opisane bardzo wnikliwie i precyzyjnie wskazując ważniejsze różnice potwierdzone statystycznie. Wątpliwości budzi przedstawiony w kilku tabelach (17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49) stosunek kwasów n₃ do n₆ w wybranych narządach oraz mięśniach udowych szczurów. Czy nie powinien zostać przedstawiony stosunek odwrotny: kwasów n₆ do n₃?

Dyskusja została poprowadzona przez doktorantkę logicznie, potwierdzając bardzo dobrą znajomość zagadnienia oraz cytowanej literatury. Rozdział ten wskazuje

na umiejętności analitycznego myślenia, łączenia faktów oraz wyciągania wniosków przez doktorantkę.

Najważniejsze wyniki i wnioski wydają się nie w pełni odzwierciedlać efekty przeprowadzonych badań. Wniosek drugi wydaje się być powtórzeniem, lub co najmniej uzupełnieniem pierwszego. Wniosek trzeci wskazujący, że izomery CLA nie mają wpływu na przyrost masy ciała, a następnie podanie informacji, że SE-Y wraz z t10 c12 C18:2 spowodował najwyższy przyrost masy ciała jest nieprecyzyjny. Koniecznym wydaje się określenie jakie izomery CLA nie mają wpływu (który z badanych, czy podawane oddzielnie, czy z dodatkami). Informacje zawarte w tym rozdziale są raczej powtórzonymi wynikami niż wnioskami. Wielokrotnie wnioski dotyczące omawianych zagadnień zostały przedstawione w dyskusji. Szkoda, że nie znalazły się w tym rozdziale.

Rozdział stanowiący *spis literatury* jest imponujący. Zawiera on zbiór najnowszej światowej literatury (opublikowanej do 2007 roku) uwzględniającej omawiane zagadnienia. Autorka bardzo sprawnie posługuje się zawartymi w publikacjach informacjami.

Drobne błędy i uchybienia zaznaczono w tekście, jednakże zakładając, że efekty badań zostaną opublikowane w renomowanych anglojęzycznych czasopismach, uwagi nie mają istotnego znaczenia. Autorka nie uniknęła również błędów w cytowanej literaturze, na co, w przypadku przygotowywania pracy do druku należy zwrócić szczególną uwagę. Nieścisłości w cytowaniu dotyczą np. Fosylie (1993), Behne i Kyriakopoulos (2001), Driscoll i Copeland (2003) błędnie przedstawionego w spisie literatury jako Discroll i Copeland, podobnie Skorkowska-Zieleniewska (1984) w spisie literatury podana jako Skorkowska-Zieleniewski, Zachara i Czerwionka-Szaflarska (1004) podana jako Zachara i wsp., Ip i Ganther (1990) podani w tekście jako Ip i Gathner, Schuckelt i wsp. (1991) podani jako Schucklet i wsp., brak w spisie literatury między innymi Aleksandrowicz (1989), Gumińska (1989), Griffin (1979), Wagner (2004).

Reasumując uważam, że oceniana praca doktorska jest napisana bardzo dobrze, a stwierdzone usterki nie obniżają jej walorów poznawczych i nie umniejszają wartości merytorycznej. Przedstawiając powyższe stwierdzam, że oceniana praca odpowiada w pełni wymogom stawianym rozprawom doktorskim, a określonym w Ustawie Nr 595 z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 z dnia 14 kwietnia 2003 roku) i na tej podstawie wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt Polskiej Akademii Nauk w Jabłonie o dopuszczenie magister Katarzyny Korniluk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

M. Kwacka-Strabel