

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Natalii Wawrzyniak pt. „Badanie wpływu wybranych czynników żywieniowych i farmakologicznych na gospodarkę mineralną i metabolizm tkanki kostnej w zwierzęcym modelu osteoporozy pomenopauzalnej”**

**1. Podstawa formalno-prawna opracowania recenzji**

Podstawą formalną opracowania recenzji uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu powołująca mnie w dniu 29 czerwca 2023 r. na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr **Natalii Wawrzyniak**. Przewód został wszczęty w obszarze nauk rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

**2. Uzasadnienie podjęcia tematyki badawczej**

Szacuje się, że osteoporoza dotyka około 200 milionów kobiet na całym świecie. Osteoporoza pomenopauzalna występuje zwykle około 45 -55 roku życia, kiedy w wyniku zmniejszenia się ilości żeńskich hormonów płciowych, zwłaszcza estrogenu, dochodzi do stopniowej utraty masy kostnej. Osteoporoza, potocznie zwana „cichym złodziejem kości”, zwykle nie daje żadnych objawów przed złamaniem, które może nastąpić w wyniku nawet niewielkiego urazu lub podczas wykonywania codziennych czynności. Niska gęstość mineralna kości może być leczona farmakologicznie, jednak długotrwałe stosowanie leków doustnych (np. alendronianu) prowadzi do licznych skutków ubocznych, dlatego tak ważna jest dietoprofilaktyka oraz niefarmakologiczne wspieranie terapii osteoporozy. Skutecznym i łatwym sposobem zwiększenia podaży wapnia w diecie jest spożywanie żywności bogatej w jego łatwo przyswajalne formy. Z tego powodu wybór tematyki pracy jest jak najbardziej uzasadniony. Podkreślić należy innowacyjność rozwiązania – opracowanie technologii preparatów z owoców dyni fortyfikowanych wapniem. Sam surowiec - owoce dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* L.) jest doskonałym wyborem z uwagi na unikalny skład i właściwości biologiczne związków czynnych, których jest zasobnym źródłem.

**Ogólna charakterystyka rozprawy**

Na rozprawę składa się cykl pięciu publikacji wydanych w czasopismach naukowych o łącznej punktacji MNiSW wynoszącej 420 punktów i sumarycznym wskaźniku Impact Factor 17,765. Cykl publikacji stanowi jedna praca przeglądowa będąca wprowadzeniem i

przełogdem aktualnego stanu wiedzy z zakresu realizowanej tematyki, opublikowana w czasopiśmie *Nutrition Reviews*, oraz cztery prace badawcze opublikowane w czasopismach *Foods*, *Journal of Food Science and Technology*, *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* oraz *Open Chemistry*.

We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, nie podano jednak jej procentowego udziału w powstaniu publikacji. Zaznaczyć należy, iż prace te są obszerne, otrzymanie i opracowanie wyników z nich zamieszczonych wymagało dużych nakładów pracy.

W dysertacji nie zastosowano zwyczajowego podziału na numerowane rozdziały i podrozdziały. Pracę rozpoczyna **Spis treści**, następnie **Wykaz publikacji włączonych do cyklu**, **Wykaz skrótów** oraz opis aktywności naukowej Doktorantki. Kolejną część stanowi **Omówienie cyklu publikacji** podzielone na kilka podrozdziałów. Pierwszym z nich są **Założenia i cele pracy wraz z uzasadnieniem połączenia publikacji w cykl**. Rozdział rozpoczyna zwięzłe i precyzyjne wprowadzenie czytelnika w tematykę dysertacji, opracowane w oparciu o dane literaturowe, podsumowane celem głównym brzmiącym niemal identycznie jak tytuł rozprawy oraz czterema celami szczegółowymi. Niestety, są one sformułowane zbyt ogólnie. Rażąca jest zwłaszcza sformułowanie „dynia wzbogacona w wapń” pojawiające się w całej rozprawie. Poprawne byłoby raczej „preparat z owoców dyni”, tym bardziej, iż do badań użyto liofilizatów. Zastanawiające jest, iż w pracy nie postawiono hipotez badawczych.

Kolejnym rozdziałem ocenianej dysertacji są **Materialy i Metody**. W części tej opisano metodykę przygotowywania preparatów z dyni fortyfikowanej solami wapnia, nie podano jednak żadnych informacji na temat pochodzenia botanicznego surowca, stopnia dojrzałości oraz efektywności procesu. Proszę Doktorantkę o uzupełnienie tych informacji. Czy oznaczano zawartość wapnia w surowcu przed i po wzbogacaniu? Jaka była trwałość otrzymanych preparatów? Dalszą część stanowi opis doświadczeń na zwierzętach oraz analiz laboratoryjnych.

W **Uzasadnieniu połączenia publikacji w cykl**, kolejnym rozdziale dysertacji, Doktorantka wykazała spójność tematyczną cyklu publikacji wchodzących w skład ocenianej rozprawy. Następną część ocenianej dysertacji stanowi **Omówienie osiągnięć badawczych kandydata opisanych w cyklu publikacji na tle aktualnego stanu wiedzy**. W pierwszej z cyklu prac doświadczalnych: „**Effects of calcium lactate-enriched pumpkin on calcium status in ovariectomized rats**” wykazano, iż wprowadzenie do diety szczurów po owariektomii preparatów dyni wzbogaconych mleczanem wapnia znacząco zwiększyło

zawartość wapnia w kościach w porównaniu do szczurów owarietomizowanych suplementowanych mleczanem wapnia. Sama owarietomia powodowała nieznaczny spadek zawartości wapnia w kościach udowych, natomiast suplementacja preparatem z dyni wzbogaconej mleczanem wapnia i alendorianem spowodowała jego znaczny wzrost. Co ciekawe, suplementacja preparatem z wzbogaconej dyni spowodowała dwukrotny wzrost stężenia wapnia w nerkach podczas gdy stosowanie alendorianu – aż sześciokrotny. W pracy pt. **„Calcium carbonate-enriched pumpkin affects calcium status in ovariectomized rats”** wykazano iż wzrost stężenia wapnia w kości udowej wystąpił u szczurów karmionych preparatami z dyni bez i z dodatkiem alendorianu oraz w przypadku grupy karmionej dietą standardową z dodatkiem tego leku. Również i tym razem zaobserwowano wzrost stężenia wapnia w nerkach, najwyższy w przypadku szczurów owarietomizowanych karmionych dietą zawierającą preparat z dyni i alendorian. Na skutek owarietomii zmniejszyła się liczba osteoklastów i wzrosła zawartość tłuszczu w szpiku kostnym. Modyfikacje diety nie zmieniły tego trendu. W trzeciej z prac pt. **„Effects of ovariectomy and calcium enriched pumpkin on magnesium status in rats”** zaobserwowano spadek zawartości magnezu w kościach i sierści szczurów na skutek owarietomii. Efekt ten stwierdzono również u szczurów spożywających pokarm ubogi wapń. Suplementacja mleczanem wapnia oraz preparatem z dyni wzbogaconej tą solą spowodowała wzrost zawartości magnezu w wątrobach szczurów po owarietomii w porównaniu do grup kontrolnych. W ostatniej pracy pt. **„Effect of pumpkin enriched with calcium lactate on iron status in an animal model of postmenopausal osteoporosis”** wykazano, iż skutkiem owarietomii był spadek zawartości żelaza w kościach, sierści i nerkach, a interwencja dietetyczna nie przyniosła oczekiwanego efektu.

Na skutek owarietomii nastąpił również spadek stężenia żelaza w śledzionie i wątrobie, jednak w tym przypadku wprowadzenie do diety preparatu z dyni zmieniło ten stan rzeczy, a efekt został spotęgowany przez dodatek alendronianu.

Opis wyników jest bardzo lakoniczny, lekturę zdecydowanie ułatwiłby schemat układu doświadczenia. Z załączonego opisu nie wynika jasno które grupy są ze sobą porównywane, co stanowiło grupę kontrolną, wyniki przedstawione są w sposób chaotyczny. Rażąco jest również kolokwialny język, którym napisana jest ta część pracy np. „wzbogacona dynia ponad dwukrotnie zwiększyła stężenie wapnia..”, „dodatek do diety dyni wzbogaconej w sole wapnia powodował wzrost wapnia w kości udowej...”, „efekt....może wynikać z interakcji między alendronianem a wzbogaconą dynią” itp. Tego rodzaju uproszczenia i skróty myślowe negatywnie rzutują na odbiór pracy, która jest przecież niezwykle

interesująca, zawiera aspekty nowatorskie, ma dużą wartość zarówno poznawczą jak i potencjał aplikacyjny.

Syntetyczny opis wyników został opatrzony komentarzem, który jest najbardziej wartościową częścią ocenianej dysertacji. W tej części Doktorantka przedyskutowała wyniki w oparciu o dostępną literaturę oraz podjęła udaną próbę wyjaśnienia niektórych raczej niespodziewanych lub kontrowersyjnych wyników. Co prawda kolokwialny język, którym niestety, również ta część pracy jest napisana, znacząco utrudnia zrozumienie niektórych fragmentów. Proszę Doktorantkę o wyjaśnienie, co konkretnie miała na myśli twierdząc „że cyt. „Prawdopodobnym powodem zwiększonej zawartości wapnia w kości po spożyciu wzbogaconej dyni jest zwiększone wchłanianie wapnia przez składniki zawarte w dyni tj. inulina, karotenoidy, zeaksantyna, luteina, które mogą dodatkowo zapobiegać resorpcji kości po owariektomii”. Na jakiej podstawie Doktorantka twierdzi, iż cyt. „wzbogacona dynia w podobny sposób zwiększa zawartość wapnia w kościach co alendronian”? Czy zbadany i porównany został mechanizm działania czy chodzi jedynie o efekt ilościowy?

Bardzo ciekawy jest fakt, iż suplementacja preparatem z wzbogaconej dyni i alendronianem spowodowała istotny wzrost stężenia wapnia w nerkach szczurów. Został on przekonująco wyjaśniony w oparciu o aktualną literaturę. Podkreślić należy, iż Doktorantka z pełną odpowiedzialnością wskazuje na potencjalnie negatywne skutki proponowanego przez siebie rozwiązania, dąży do wyjaśnienia ich mechanizmów planując przyszłe działania naukowe.

W dalszej części Komentarza Doktorantka wskazuje na fakt, iż w grupie zwierząt spożywających preparat z dyni nastąpiło nagromadzenie magnezu w wątrobie i mięśniach, co wyjaśnia na podstawie danych literaturowych. Zwraca również uwagę na fakt, iż zwierzęta przyjmujące alendronian charakteryzowały się zwiększonym stężeniem magnezu w nerkach, co wyjaśnia jako skutek zaburzeń odpowiedniego usuwania tego pierwiastka z organizmu. Proszę Doktorantkę o przedstawienie skutków nadmiernego stężenia magnezu w tkankach, jest to zagadnienie o którym mówi się zdecydowanie rzadziej niż o skutkach niedoborów. Bardzo ciekawa jest ostatnia część Komentarza dotycząca gospodarki żelazem, która prowadzi do niejednoznacznej konkluzji na temat przydatności proponowanych preparatów z dyni jako suplementu/środka spożywczego dla kobiet po menopauzie. Czy Doktorantka może odnieść się bardziej szczegółowo do tego zagadnienia w oparciu o wyniki nie umieszczone w Dysertacji a wspomniane w kolejnym rozdziale zatytułowanym **Nowatorskość badań?**

We wspomnianej części Doktorantka wskazuje na innowacyjność proponowanego rozwiązania, wskazuje na kompleksowość przeprowadzonych badań i wzmiankuje o bardzo

ciekawych wynikach, które nie są zamieszczone w Dysertacji, zostały natomiast uzyskane w ramach realizacji projektu NCN pt. „Badania nad możliwością wykorzystania matrycy roślinnej wzbogaconej w wapń w prewencji i terapii osteoporozy” nr 2018/29/B/NZ9/00461.

W dalszej części Doktorantka wskazuje na liczne ograniczenia badań własnych. Takie podejście świadczy o dojrzałości naukowej i świadomości niezwyklej złożoności poruszanego zagadnienia.

Praca podsumowana jest pięcioma wnioskami, które są, niestety, sformułowane bardzo lakonicznie i pełne skrótów myślowych. Sformułowanie „Dydia wzbogacona w mleczan lub węglan wapnia zwiększa stężenie wapnia w kości udowej...”, aczkolwiek zrozumiałe, jest mocno nieprecyzyjne. Wnioski należy przeredagować, przykładowo – przyjmowanie przez szczury po owariotomii preparatów z dyni wzbogaconej solami wapnia w ilości /dawce powoduje zwiększenie stężenia wapnia... itd.

Wniosek praktyczny jest bardzo dalekosiężny, przemilczano w nim problem metabolizmu żelaza.

Kolejną część pracy stanowi Piśmiennictwo obejmujące 57 pozycji, streszczenie w języku polskim i angielskim, kopie artykułów stanowiących cykl publikacji, oświadczenia współautorów prac tworzących cykl oraz zgoda na badania na zwierzętach.

### **Wniosek końcowy**

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr Natalii Wawrzyniak pt. „Badanie wpływu wybranych czynników żywieniowych i farmakologicznych na gospodarkę mineralną i metabolizm tkanki kostnej w zwierzęcym modelu osteoporozy pomenopauzalnej” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i spełnia wymagania stawiona rozprawom doktorskim określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach (Dz.U. 2018 poz. 1669 z późn. zm.), zgodnie z ustawą dnia 20 lipca 2018 roku. Zgodnie z przepisami wprowadzającymi – *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz.U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.) i rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20-go września 2018 roku. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin artystycznych. Zwracam się zatem do Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr Natalii Wawrzyniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.