

Prof. zw. dr hab. Maria H. Borawska  
Kierownik Zakładu Bromatologii  
Uniwersytetu Medycznego  
w Białymstoku

Białystok, 7 stycznia 2016 r.

## Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Anety Lewickiej

pt.: „*Wpływ suplementacji diety niedoborowej w białko witaminą B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> na skład i zawartość kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów poddanych dozowanemu wysiłkowi fizycznemu*”

wykonanej w Zakładzie Higieny i Fizjologii Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii im. Generała Karola Kaczkowskiego w Warszawie.

Dane odnośnie diety niedoborowej w białko dotyczą przede wszystkim jednoczesnych niedoborów energetycznych w wyniku niedożywienia u ludzi starszych lub chorych, które prowadzą do marazmu, czyli zmniejszenia masy mięśniowej i zapasów tłuszczu. Wiadomo także, że trening oporowy jest skuteczny w terapii zespołu sarkopenicznego. Ćwiczenia biegowe połączone z odpowiednią dietą powodują spadek poziomu tłuszczu, a jednocześnie zabezpieczają przed utratą masy mięśniowej w organizmie.

Witaminy z grupy B odgrywają ważną rolę w homeostazie energetycznej, termoregulacji i metabolizmie; biorą udział w metabolizmie tłuszczów i węglowodanów. Wykazano, że niedobory witaminy B<sub>2</sub> w diecie hamują procesy oksydacyjne kwasów tłuszczowych, a niedobory witaminy B<sub>6</sub> (poprzez obniżenie aktywności  $\Delta 6$ -desaturazy) prowadzą do obniżenia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w tkankach. Witamina B<sub>6</sub> ma także szczególne znaczenie w

procesie przemian aminokwasów i dlatego często jest dodawana do preparatów aminokwasowych i białkowych. Jednym z najważniejszych czynników wpływających na zapotrzebowanie na tę witaminę jest ilość spożywanego białka.

Przedstawiona rozprawa doktorska mgr Anety Lewickiej stanowi przykład nowego podejścia do zagadnienia. Doktorantka podjęła badania w celu odpowiedzi na sformułowaną hipotezę badawczą: „Czy suplementacja diety witaminą B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> oraz wysiłek fizyczny mają wpływ na zawartość kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów na diecie niedoborowej w białko?”.

Badania, które podjęła w niniejszej rozprawie, są uzasadnione naukowo i cenne wobec dotychczas niezbadanego dylematu dotyczącego określenia przemian kwasów tłuszczowych podczas jednoczesnego niedoboru białka w diecie i wysiłku fizycznego, po dodatkowym podaniu witamin z grupy B.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma typowy układ i obejmuje 90 stron; w tym 151 pozycji dobrze dobranego piśmiennictwa, z czego około 55 procent to publikacje z ostatnich 10 lat. Dokumentację wyników badań, umieszczonych w treści rozprawy stanowi 7 rycin (w tym jedna rycina jako fotografia dokumentująca wygląd szczurów w 90 dniu doświadczenia) i 15 tabel. Dodatkowo w postaci załącznika dołączono nazwy systematyczne oraz zwyczajowe badanych kwasów tłuszczowych.

Rozprawa posiada typową, ładną szatę graficzną z kolorowymi, czytelnymi rycinami.

Wstęp pracy składa się z 2 podrozdziałów, w których Autorka wyczerpująco omawia stan wiedzy dotyczący:

- wpływu niedoboru białka w diecie i zastosowanie tej diety w takich schorzeniach jak choroba Parkinsona, przewlekła choroba nerek, czy encefalopatia wątrobowa;
- charakterystyki i znaczenia biologicznego kwasów tłuszczowych - szczególnie wielonienasyconych niezbędnych kwasów tłuszczowych

(WNKT) oraz wpływu na nie niedoborów białkowych, wysiłku fizycznego i roli witaminy B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> w ich przemianach.

Uważam, że cel pracy, którym była analiza składu oraz zawartości kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów na diecie niedoborowej w białko i dodatkowo poddanych wysiłkowi fizycznemu po zastosowaniu suplementacji witaminami B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub>, był ambitnym i trudnym zadaniem; nie tylko pod względem długotrwałego okresu (90 dni) jego przeprowadzenia na zwierzętach doświadczalnych, ale także metodycznym.

W rozdziale „Materiał i Metody badań” Doktorantka opisuje badane grupy szczurów samców rasy Wistar, które stanowiły w 1 modelu układ eksperymentu do oceny wpływu witaminy B<sub>2</sub> - 85 szczurów, a w 2 modelu witaminy B<sub>6</sub> - 70 szczurów. Modele te posiadały 4 takie same grupy zwierząt tj. 2 grupy kontrolne z dietą dostarczającą 20% energii z białka bez wysiłku fizycznego lub poddane jedno godzinnemu treningowi na bieżni i 2 grupy z dietą niedoborową w białko (4.5% energii z białka) oraz po 2 dodatkowe grupy szczurów z witaminą B<sub>2</sub> (Tab.1) lub B<sub>6</sub> (Tab.2), odpowiednio. W trakcie eksperymentu określano spożycie dostarczanej karmy i przyrost masy badanych zwierząt.

W pobranej od szczurów krwi w 30, 60 i 90 dniu doświadczenia oznaczano zawartość cholesterolu, triacylogliceroli i niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych z wykorzystaniem testów diagnostycznych firmy Pointe Scientific oraz dokonano analizy chromatograficznej składu kwasów tłuszczowych, po ich uprzedniej estryfikacji, za pomocą chromatografu gazowego firmy PerkinElmer z autosystemem XL w odniesieniu do czasów retencji wzorcowych estrów metylowych kwasów tłuszczowych firmy Supelco.

Na przeprowadzenie powyżej przedstawionych doświadczeń na szczurach uzyskano zgodę IV Lokalnej Komisji Etycznej w Warszawie.

W obliczeniach statystycznych Doktorantka wykorzystwała test Shapiro-Wilka i test OneWay ANOVA z korektą Bonferroniego w przypadku rozkładu normalnego wyników badań, a jeżeli warunek ten był niespełniony – test Kruskala-Wallisa.

Mgr mgr Aneta Lewicka wykazała, że dieta niedoborowa w białko powodowała mniejszy przyrost masy ciała szczurów i pobudzenie nerwowe, ale suplementacja diety witaminą B<sub>6</sub>, zarówno w grupie nietrenowanej jak i trenowanej, od 1 do 11 tygodnia doświadczenia polepszała wzrost masy ciała oraz wzmagala agresję badanych zwierząt w odróżnieniu od witaminy B<sub>2</sub>, która nie wykazywała tego efektu.

Dieta niedoborowa w białko wpływała istotnie na skład i zawartość kwasów tłuszczowych w krwi szczurów powodując wzrost kwasów nasyconych, obniżenie kwasów jednonienasyconych oraz także po treningu – spadek procentowej zawartości kwasu DHA jedynie w 90 dniu eksperymentu.

Suplementacja diety niedoborowej w białko witaminami oraz wysiłek fizyczny nie miały wpływu na obniżoną zawartość cholesterolu, triacylogliceroli i niezmienną stężenie niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych w surowicy testowanych szczurów, ale obniżały procentową zawartość wielonienasyconych **niezbędnych** kwasów tłuszczowych.

Jednak witamina B<sub>2</sub> w 30 dniu eksperymentu a witamina B<sub>6</sub> w 90 dniu doświadczenia - wpływały na wzrost wielonienasyconych kwasów tłuszczowych.

Wyniki badań wskazują, że suplementacja diety niedoborowej w białko witaminami B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> może wykazywać działanie ochronne na parametry lipidowe w surowicy krwi, a intensywny wysiłek fizyczny nie stanowi istotnego zagrożenia dla zdrowia.

Rzeczowa dyskusja licząca 10 stron potwierdza bardzo dobrą znajomość tematu i piśmiennictwa Autorki rozprawy.

Doktorantka Aneta Lewicka w podsumowaniu pracy stwierdza, że: „ stosowna wydaje się suplementacja witaminami B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> w trakcie stosowania diety

niedoborowej w białko, a w przypadku intensywnego treningu fizycznego należałoby rozważyć dodatkową podaż WNKT” - z czym w pełni się zgadzam.

Pracę kończy 6 wniosków, które są prawidłowo sformułowane na podstawie analizy uzyskanych wyników badań.

Z obowiązku Recenzenta przedstawiam uwagi, które dotyczą usterek redakcyjnych lub mają charakter dyskusyjny:

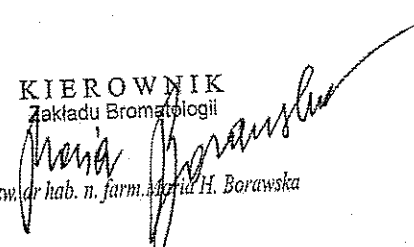
- w tabelach 1 i 2 wskazane byłoby podanie konkretnej liczby (n) szczurów w poszczególnych grupach szczurów a w pozostałych tabelach ilości oznaczeń;
- wskazane byłoby również umieszczenie wzorcowego rozdziału chromatograficznego estrów badanych kwasów tłuszczowych.

Powyższe uwagi nie mają wpływu na moją, w pełni pozytywną ocenę rozprawy.

**Przedstawiona do oceny rozprawa spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom na stopień doktora.**

Rozprawę oceniam wysoko pod względem merytorycznym, bo zawiera ona elementy nowatorskie i dane, które mogą zostać wykorzystane do suplementacji diety niedoborowej w białko.

Reasumując, wnioskuję o dopuszczenie mgr Anety Lewickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego na stopień doktora z dziedziny nauk medycznych w zakresie biologii medycznej.

KIEROWNIK  
Zakładu Bromatologii  
  
prof. zw. dr hab. n. farm. H. Borawska