



UNIwersytet Rolniczy
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Wydział Technologii Żywności
Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki

dr hab. inż. Magdalena Franczyk-Żarów, prof. URK

Kraków, 27 września 2021 r.

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr inż. Olgi Mizery

pt. „Wpływ diety i soku z buraka na wybrane parametry stresu oksydacyjnego i wydolności fizycznej u szermierzy”

wykonanej w Katedrze Dietetyki Instytutu Nauk o Żywieniu Człowieka
Szkoly Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
pod kierunkiem dr hab. Lucyny Kozłowskiej, prof. SGGW

Podstawa prawna: pismo Przewodniczącej Rady Dyscypliny Technologii Żywności i
Żywienia SGGW w Warszawie

Uzasadnienie tematu badań

Ze względu na ogromną różnorodność substancji mających zwiększyć wydolność fizyczną organizmu i poprawić wyniki osiągane przez sportowców, zasadnym jest weryfikowanie potencjalnie korzystnych związków. Podjęcie badań nad wpływem soku z buraka na parametry stresu oksydacyjnego i wydolności fizycznej u szermierzy jest niezwykle ważnym uzupełnieniem wiedzy z tego zakresu. Sok z buraka (*Beta vulgaris var. Ruba*) jest bogatym źródłem bioaktywnych substancji oraz azotanów nieorganicznych (NO_3^-), które są substratem do syntezy biologicznie aktywnego tlenku azotu (NO). Zawarte w produktach spożywczych NO_3^- poprawiały wazodylatację naczyń krwionośnych, zwiększając przepływ

krwi i w konsekwencji prowadziły do poprawy wydolności fizycznej sportowców m.in. chodźarzy, biegaczy, wioślarzy czy kolarzy. NO sprzyja również wydzielaniu neuroprzekazników lub hormonów. Niemniej jednak w literaturze przedmiotu są opisane badania, w których nie potwierdzono poprawy wydolności fizycznej po spożyciu NO_3^- . Brak korzystnego efektu upatrywano w zmienności w indywidualnej odpowiedzi na czynnik, różnym okresie suplementacji oraz poziomie wyszkolenia zawodników. Bardzo intensywna aktywność fizyczna może prowadzić do zaburzeń równowagi oksydacyjno-redukcyjnej, a w organizmie wyszatłconych jest wiele mechanizmów obronnych głównie enzymatycznych. Wśród egzogennych związków należących do systemu antyoksydacyjnego wymienia się niektóre witaminy, mikroskładniki czy polifenole. Sok z buraka jest bogatym źródłem związków o działaniu antyoksydacyjnym i przeciwzapalnym, zawiera m.in. kwas askorbinowy, karotenoidy, betalainy (betaksantynę, betacyjaninę), związki fenolowe czy flawonoidy (katechiny, epikatechinę, rutynę). Zatem podjęcie badań nad wpływem długotrwałego podawania soku z buraka na parametry stresu oksydacyjnego i wydolności fizycznej u szermierzy należy uznać za jak najbardziej uzasadnione.

Ocena formalna pracy

Rozprawę doktorską stanowi cykl 3 publikacji poprzedzonych 55-stronicową częścią wprowadzającą do prac, w skład której wchodzi: streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cel i zakres badań, materiał i metody badawcze, najważniejsze wyniki, dyskusja, ograniczenia przeprowadzonych badań, stwierdzenie końcowe i wnioski, spis piśmiennictwa (literatura - 129 pozycji) oraz załączniki.

Pracę doktorską stanowi cykl następujących publikacji:

1. **Olga Mizera**, Lucyna Kozłowska, Ewelina Hallmann, Jolanta Gromadzińska, Anna Mróz, Wojciech Wąsowicz. Relationship Between Long-Term Beetroot Juice Supplementation and Hematological Parameters in Elite Fencers - a Pilot Study. *Global Journal of Health Science*; Vol. 12, No. 13; 2020, 73-85. DOI: 10.5539/gjhs.v12n13p73.
2. Lucyna Kozłowska, **Olga Mizera**, Jolanta Gromadzińska, Beata Janasik, Karolina Mikołajewska, Anna Mróz, Wojciech Wąsowicz. Changes in Oxidative Stress, Inflammation, and Muscle Damage Markers Following Diet and Beetroot Juice Supplementation in Elite Fencers. *Antioxidants*. 2020, 9(7): 571-592. DOI: 10.3390/antiox9070571.

OWP

3. Lucyna Kozłowska, **Olga Mizera**, Anna Mróz. An Untargeted Metabolomics Approach to Investigate the Metabolic Effect of Beetroot Juice Supplementation in Fencers-A Preliminary Study. *Metabolites*. 2020, 10(3): 100-117. DOI: 10.3390/metabo10030100.

Publikacje stanowiące rozprawę doktorską to zbiór 3 oryginalnych prac naukowych, z których dwie zostały przyjęte do druku w czasopismach z listy *Journal Citation Reports*. Dotyczą one wspólnego obszaru badawczego, a mianowicie wpływu diety i soku z buraka na parametry stresu oksydacyjnego i wydolności fizycznej u szermierzy. Wśród trzech publikacji wykazanych jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę postępowania doktorskiego pierwsza została zamieszczona w *Global Journal of Health Science* (40 pkt. MEiN, Artykuł 1), druga w *Antioxidants* (100 pkt. MEiN, IF=5,014, Artykuł 2), a trzecia w *Metabolites* (70 pkt. MEiN, IF=4,097, Artykuł 3).

W dokumentacji przesłanej do recenzji przedłożono oświadczenia współautorów potwierdzających udział Doktorantki w badaniach. Wszystkie załączone prace są współautorskie (od 3 do 7 współautorów). W zgłoszonych do uzyskania stopnia doktora artykułach Doktorantka jest autorem głównym, a w dwóch dodatkowo korespondencyjnym. Indywidualny udział Pani mgr inż. Olgi Mizery w pracach wynosi: 47%, 45% i 50%, co zostało potwierdzone stosownymi oświadczeniami współautorów. Polegał on m.in. na wkładzie w koncepcję badań, metodologię badawczą, przeprowadzenie badań, zarządzanie danymi, pisanie publikacji czy przechowywanie danych.

Wszystkie publikacje ukazały się w 2020 roku. Wprawdzie przedstawione prace są wieloautorskie, jednakże czasopisma w których opublikowano wyniki są wysoko punktowane. Na podkreślenie zasługują ilościowe wskaźniki charakteryzujące publikacje wchodzące w skład monotematycznego cyklu. Łączny *Impact Factor* wymienionych publikacji wynosi 9,111, a suma punktów zgodnie z wykazem MEiN wynosi 210.

Ocena poprawności sformułowania tytułu, celu pracy oraz jego uzasadnienia

Tytuł pracy jest sformułowany poprawnie i realizowany w zaplanowanych badaniach. Koresponduje również z celem i treścią. Część wprowadzająca jest starannie przygotowana i napisana ładną polszczyzną, chociaż pojawiają się drobne błędy stylistyczne czy interpunkcyjne.

W rozdziale **Cel i zakres badań** Doktorantka podaje uzasadnienie podjęcia badań oraz cel główny pracy, który został sformułowany poprawnie. Cel został sprecyzowany w sposób

jasny i klarowny. Pojawia się tutaj również opis zakresu badań. Dowiadujemy się m.in., że zostały opracowane indywidualne zalecenia żywieniowe dla sportowców biorących udział w badaniu. Niemniej jednak ani w części wstępnej, ani w publikacjach nie pojawiają się te zalecenia, chociaż w tytule rozprawy i jednej publikacji jest mowa o wpływie diety. Można się zastanawiać, czy chodzi o suplementację sokiem z buraka, śniadanie przed wizytą w laboratorium czy o indywidualne jadłospisy przygotowane dla szermierzy. W opisie brak jest również jasno sformułowanej hipotezy badawczej.

Ocena metodologii badań

W rozdziale **Materiał i metody badawcze** przedstawiono na wstępie charakterystykę badanej grupy osób należących do Kadry Narodowej Szermierzy. W ocenie szczegółowej tej części pracy zwracam jednak uwagę na następujące aspekty: winno być w liczbie mnogiej „kryteriami wykluczenia z badań były”, gdyż następnie Autorka wymienia kolejno wymagania. Brak jest szczegółowych informacji na temat przeprowadzonej oceny sposobu żywienia (dzienniczki 3-dniowego bieżącego notowania) oraz celu podawania w grupie B i D maltodekstryny. Brakuje również opisu wspomnianego wcześniej programu żywieniowego (wdrożonych zaleceń dietetycznych) z planem posiłków, informacje takie z pewnością wzbogaciłyby pracę i ułatwiły odbiór czytelnikowi. Uprzejmie proszę o ustosunkowanie się do tych uwag w odpowiedzi na recenzję.

Ponadto warto zwrócić uwagę na stosowanie skrótów w tekście, poprzez podanie skrótu, jego wytłumaczenia w języku angielskim (zwykle kursywą) i następnie w języku polskim. Stosowane w pracy skróty są wyjaśnione, ale czasami w różny sposób. Generalnie spis skrótów występujących w tekście zawarty na początku opracowania ułatwiłby również zrozumienie pracy.

W charakterystyce soku z buraka w podanych analizach winno być „zawartość polifenoli” zamiast stężenie. Pojawiły się tu również drobne błędy literowe, w zapisie jednostki (°C nie należy stosować spacji) czy brak dwóch akapitów.

W opisie analiz wykonanych w pobranych próbkach krwi i moczu są również drobne błędy literowe m.in. w podpunkcie dotyczącym metody oznaczenia stężenia MDA cyt. „Stężenie dialdehydu malonowego (MDA) w surowicy” czy stylistyczne cyt. „W celu analizy stężenia seleniu (Se) w surowicy próbki surowicy”.

Wymienione tutaj błędy czy uwagi nie umniejszają ogromnej wartości merytorycznej zaplanowanych i przeprowadzonych badań. Szeroki zakres różnorodnych ocen i analiz

włącznie z badaniami z zakresu metabolomiki niecelowanej jest imponujący i wszechstronny. Zaplanowana i przeprowadzona analiza statystyczna jest wyczerpująca, adekwatna i dokładna.

Autorka w części wprowadzającej do prac przedstawia zarys badań, stosowanych metod analitycznych oraz statystycznych. Realizacja nakreślonego celu wymagała zastosowania szerokiej gamy specyficznych analiz (sposobu żywienia, stanu odżywienia, poziomu aktywności i wydolności fizycznej, składu i wartości odżywczej liofilizatu z soku buraka czy analiz biochemicznych). Przedstawiona rozprawa doktorska wykonana została za pomocą poprawnych metod badawczych przy wykorzystaniu właściwie dobranych nowoczesnych metod łącznie z próbą wyjaśnienia mechanizmu (metabolomika niecelowana) działania zastosowanego czynnika (suplementacji sokiem z buraka). W mojej opinii dobór metod był właściwy i imponujący w stosunku do założonego celu. Wielość metod analitycznych świadczy o bardzo dobrej znajomości warsztatu badawczego oraz dowodzi rzetelnego przygotowania do prowadzenia badań.

Ocena prezentacji, interpretacji i dyskusji wyników

W syntetycznym opisie wyników Doktorantka dokonała przedstawienia rezultatów badań mieszczących się w załączonych publikacjach. Omówiła najważniejsze wyniki i przedstawiła dogłębną dyskusję.

W części zawierającej opis najważniejszych wyników Doktorantka przedstawiła parametry stanu odżywienia, aktywności i wydolności fizycznej w grupie badanych szermierzy (publikacja 1), opisała wartość energetyczną oraz spożycie wybranych składników odżywczych (publikacja 1), przedstawiła parametry stresu oksydacyjnego i uszkodzenia mięśni (publikacja 2). Zaprezentowała zależności pomiędzy parametrami stresu oksydacyjnego, antropometrycznymi, uszkodzenia mięśni oraz aktywności i wydolności w badanej grupie szermierzy (publikacja 2). Opisała parametry hematologiczne krwi (publikacja 1). Na zakończenie Doktorantka przedstawiła analizę statystyczną danych uzyskanych z badań metabolomicznych próbek moczu (publikacja 3). Wszystkie zaprezentowane wyniki badań zawierają opracowanie statystyczne danych.

W przedstawionych badaniach, jak podkreśla Autorka, po raz pierwszy kompleksowo analizowano wpływ programu żywieniowego (którego, jak wspomniałam wyżej, niestety nie zaprezentowano) i przyjmowania liofilizowanego soku z buraka. Podsumowując najważniejsze wyniki badań wykazano istotne zmiany w składzie ciała (wzrost FFM%), zaobserwowano wzrost stężenia dialdehydu malonowego (MDA) w surowicy, co było dodatnio skorelowane ze stężeniem peroksydazy glutationowej (GPx3), odnotowano wzrost liczby erytrocytów i

stężenia hemoglobiny. Po spożyciu soku z buraka nastąpił również wzrost wydolności fizycznej (VO_{2max}), a wielkości tego wskaźnika były ujemnie skorelowane ze zmianami aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) oraz stężenia MDA i β -karotenu. Doktorantka podkreśliła, że efektywność ergogenicznego działania soku z buraka u części zawodników mogła być obniżona jako skutek znacznego obciążenia organizmu treningiem o wysokiej intensywności, co właśnie objawiało się wzrostem stężenia MDA i aktywności LDH. Dane z zakresu metabolomiki niecelowanej wykazały, że wystąpiły zmiany w metabolizmie dotyczące głównie ścieżki przemian tyrozyny, tryptofanu, kwasów żółciowych i puryn, co wskazuje, że wzrost wydolności fizycznej po spożyciu soku z buraka nie ogranicza się tylko do zwiększenia syntezy tlenu azotu. W pracy wykazano, że długotrwałe spożycie soku z buraka może powodować wiele zmian w parametrach stresu oksydacyjnego oraz wywierać korzystny efekt na poprawę wydolności fizycznej u szermierzy.

W rozdziale **Dyskusja** Doktorantka wykazała się doskonałą znajomością problematyki i umiejętnością wykorzystania literatury naukowej. Przedstawiona dyskusja wyników jest bardzo wnikliwa, rzeczowa oraz kompletna. Zostały pokazane zależności pomiędzy badanymi parametrami oraz podjęto próbę opisanie mechanizmu działania badanego czynnika, jakim była suplementacja sokiem z buraka. Zamieszczone dane Autorka poparła cytatami z bibliografii zawierającej aktualne pozycje literaturowe (129 pozycji). Piśmiennictwo wykorzystane w tym rozdziale jest starannie dobrane. Wiele prac (45 pozycji) pochodzi z ostatnich 10 lat. Przegląd piśmiennictwa Doktorantka przedstawiła w również w publikacjach.

W tekście pojawiają się drobne błędy interpunkcyjne czy literowe, niemniej jednak nie mają one wpływu na odbiór wnikliwej i dogłębnej dyskusji.

W kolejnym rozdziale Doktorantka opisała **ograniczenia przeprowadzonych badań**, skąd wynika jak wiele uwagi poświęcono kryteriom włączania szermierzy do badań. Z uwagi na wybór tak elitarnej grupy sportowców (Kadra Narodowa Szermierzy), nie było możliwości zwiększenia liczebności badanej grupy. Autorka tłumaczy również długość okresu obserwacji (8 tygodni) i aspekty, które miały wpływ na to, że nie mógł on być dłuższy. Doktorantka przyznaje tutaj jakich analiz nie wykonano m.in. stężenia azotynów i azotanów w moczu. Warto docenić krytyczne podejście i ogromną naukową świadomość Doktorantki do przeprowadzanych badań z udziałem tak elitarnej grupy sportowców.

Ocena wnioskowania

Na podstawie otrzymanych wyników badań sformułowano stwierdzenie końcowe i wnioski. Przedstawiają one najważniejsze rezultaty badań w kontekście założonego celu.

Stanowią więc raczej podsumowanie przeprowadzonych badań. Ważnym dokonaniem badawczym Autorki uzyskanym w wykonanej pracy jest wykazanie, że długotrwałe przyjmowanie soku z buraka może powodować wiele zmian w parametrach stresu oksydacyjnego oraz wywierać korzystny wpływ na poprawę wydolności fizycznej u szermierzy. Natomiast zmiany w metabolizmie wskazują, że wzrost wydolności fizycznej po spożyciu soku z buraka nie ogranicza się tylko do zwiększenia syntezy NO. Zatem równie ważny jest odpowiednio zaplanowany plan treningowy oraz indywidualne zalecenia żywieniowe.

Ocena wykorzystanej bibliografii

W części opisowej skorzystano z 129 pozycji literatury. Większość z nich to oryginalne prace twórcze. Ponad 35% cytowanych prac opublikowano w ostatnich 10 latach. Na uwagę zasługuje trafny dobór źródeł, nawet tych odnoszących się do pierwszych badań opisujących dany temat (prace z lat 50. 60. czy 70.).

Przegląd publikacji wchodzących w zakres pracy doktorskiej

Publikacja 1

Artykuł jest pracą oryginalną – badaniem pilotażowym, Doktorantka jest w nim pierwszym i korespondencyjnym autorem. Autorka przedstawiła tutaj wyniki dotyczące parametrów antropometrycznych, biochemicznych i hematologicznych u badanych szermierzy. Zaprezentowała również dane dotyczące spożycia składników odżywczych. Na podkreślenie zasługuje szczegółowa analiza liofilizatu z soku buraka (w przeliczeniu na 100 g oraz na porcję 26 g), która nie została przedstawiona w opisie pracy. Publikacja zawiera obszerną, wyczerpującą dyskusję. Takie wprowadzenie czytelnika w tematykę świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do prowadzenia badań w tym zakresie.

Udział w tworzeniu publikacji Autorka szacuje na 47%. W ramach pracy Doktorantka opracowała koncepcję badań, metodologię badawczą, przeprowadziła badania, brała udział w krytycznej ocenie manuskryptu, zarządzała danymi, pisała publikację oraz przechowywała dane.

Publikacja 2

W oryginalnym artykule przedstawiono wpływ spożycia soku z buraka na zmiany parametrów stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego oraz uszkodzenia mięśni. Zarówno

metodyka wykonanych badań jak i zastosowane metody statystycznej analizy wyników zostały tu szczegółowo opisane. Niektóre dane statystyczne zostały umieszczone w suplemencie. Doktorantka przedstawiła uzyskane wyniki w sposób przejrzysty i właściwie je zinterpretowała. Warto podkreślić, że cała analiza uzyskanych rezultatów została przeprowadzona bardzo wnikliwie i starannie. O wysokiej wartości merytorycznej pracy świadczy fakt, że publikacja ta (2020) była już cytowana 2 razy.

Swój udział w tworzeniu publikacji Autorka szacuje na 45%, jest w niej korespondencyjnym autorem. Zakres merytoryczny wkładu w powstanie publikacji Doktorantka przedstawia jako udział w: koncepcji badania, metodologii badawczej, administrowaniu projektem, krytycznej ocenie manuskryptu, zarządzaniu danymi, pisaniu publikacji, walidacji, analizie formalnej, przygotowaniu wizualnym publikacji oraz pozyskaniu finansowania.

Publikacja 3

Artykuł jest pracą oryginalną – są to badania wstępne, opisujące wykorzystanie niecelowanej metabolomiki w celu wyjaśnienia mechanizmu działania suplementacji sokiem z buraka u szermierzy. Metabolomika to unikatowa, interdyscyplinarna i zaawansowana technologicznie dziedzina biologii systemowej. Badania te polegają na jakościowych i ilościowych analizach składu próbek biologicznych pozwalających na poszukiwanie zależności i kierunków zmian jakie zachodzą pod wpływem badanego czynnika w organizmie. Metabolom odzwierciedla aktualny stan fizjologiczny, dlatego wykorzystanie tego narzędzia badawczego w pracy doktorskiej należy uznać za jak najbardziej nowatorskie i zaawansowane. Metabolomika niecelowana, zwana również metabolomiczną analizą odcisku palca, traktowana jest jako faza poznawcza, która może być uzupełniona przeprowadzeniem analiz celowanych. Należy podkreślić, że jest to pierwsza praca opisująca badania metabolomiki niecelowanej w próbkach moczu u szermierzy po długotrwałej suplementacji sokiem z buraka. Przeprowadzona w niej analiza wyników i dyskusja są niezwykle szczegółowe, staranne i wyczerpujące.

W publikacji przedstawiona została metodyka badania, opisane są raz jeszcze parametry antropometryczne oraz aktywności i wydolności fizycznej czy spożycia wybranych składników odżywczych, niemniej jednak przedstawiono je w innych jednostkach miary i poddano innej prezentacji statystycznej. Z uwagi na jednoczesne ukazanie się w 2020 roku wszystkich trzech publikacji, można odnieść wrażenie, że niektóre informacje, szczególnie te dotyczące m.in. metodyki badań, powtarzają się w pracach. Jednocześnie stwierdzam, że uchybienia te nie mają wpływu na wartość pracy.

Udział w tworzeniu publikacji Autorka szacuje na 50%. Zakres merytoryczny wkładu w powstanie publikacji Doktorantka przedstawia jako udział w: opracowaniu koncepcji badań, przeprowadzeniu badania, zarządzaniu danymi, pisaniu publikacji oraz administrowaniu projektem.

Podsumowując ocenę cyklu publikacji składających się na niniejszą pracę doktorską można odnieść wrażenie, że kolejność prac jest niechronologiczna. Publikacja przedstawiona jako pierwsza (w *Global Journal of Health Sciences*) ukazała się jako ostatnia, a artykuł zaprezentowany jako trzeci (w *Metabolites*) został opublikowany jako pierwszy. Świadczy o tym także autocytywanie, w publikacji nr 1 i 2 w spisie literatury jest publikacja nr 3. Zastanawiające są również powtórzenia zarówno w części metodycznej oraz niektórych wyników, które nie powinny się zdarzyć. Skoro prace były wysyłane jedna po drugiej (w kolejności 3, 2, 1) czy nie należałoby je wyłącznie zacytować? Dodatkowo zwraca uwagę bardzo niski udział niektórych współautorów (1-3%) we wkładzie w powstanie publikacji, może wystarczyło zamieścić podziękowania? Uprzejmie proszę o ustosunkowanie się do tych uwag w odpowiedzi na recenzje.

Wniosek końcowy

W podsumowaniu przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej mgr inż. Olgi Mizery pt. „Wpływ diety i soku z buraka na wybrane parametry stresu oksydacyjnego i wydolności fizycznej u szermierzy” stwierdzam, że moja ocena jest **pozytywna**. Rozprawa stanowi wartościowe opracowanie naukowe oraz dostarcza wielu cennych wyników badań, które przyczyniają się do istotnego poszerzenia wiedzy na temat wpływu soku z buraka na wydolność fizyczną wysoko wytrenowanych sportowców. Na podkreślenie zasługuje ogromny wkład pracy włożony w realizację rozprawy, starannie zaplanowane badania, wykorzystanie wielu różnorodnych metod badawczych, dobre przygotowanie warsztatowe, wykonanie rzetelnej analizy statystycznej z omówieniem zależności, wreszcie umiejętność interpretacji danych i wyciągania wniosków. Wszystko to świadczy o dobrym przygotowaniu merytorycznym i warsztatowym Doktorantki. Podkreślić należy również potencjalny aspekt aplikacyjny pracy. Nieliczne uwagi/spostrzeżenia zawarte w recenzji w żaden sposób nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy.

Stwierdzam, że praca Pani mgr inż. Olgi Mizery spełnia warunki stawiane pracom doktorskim określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i

tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 z 2003 r., poz. 595, z późn. zmianami).

Wnioskuje zatem do Rady Dyscypliny Technologii Żywności i Żywnienia Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie Pani mgr inż. Olgi Mizery do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Autograf - 7005