

Kraków dnia, 06.09.2021 r.

Prof. dr hab. inż. Aneta Kopec
Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki
Wydział Technologii Żywności
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Ewy Żyły

pt. „Wpływ beta-glukanów owsa na przebieg stanu zapalnego jelita grubego”

wykonanej

*w Katedrze Dietetyki, Instytutu Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoły Głównej Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie*

*pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Joanny Gromadzkiej-Ostrowskiej i promotora
pomocniczego dr inż. Katarzyny Dziendzikowskiej.*

Podstawa prawna: pismo prof. dr hab. Krystyny Gutkowskiej, Przewodniczącej Rady Dyscypliny Technologii Żywności i Żywienia, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (z dnia 24 czerwca, 2021 r.).

Ocena formalna pracy

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Ewy Żyły ma formę spójnego tematycznie cyklu 3 prac naukowych w skład, którego wchodzi:

1. Harasym J., **Żyła E.**, Dziendzikowska K., Gromadzka-Ostrowska J., 2019. Proteinaceous residue removal from oat β -glucan extracts obtained by alkaline water extraction *Molecules*, 24(9), doi.org/10.3390/molecules24091729.
2. **Żyła E.**, Dziendzikowska K., Kamola D., Wilczak J., Sapieryński R., Harasym J., Gromadzka-Ostrowska J. 2021. Anti-inflammatory activity of oat beta-glucans in a crohn's disease model: time- and molar mass-dependent effects. *International Journal of Molecular Sciences*, 25;22(9):4485 ; doi.org/10.3390/ijms22094485.
3. **Żyła E.**, Dziendzikowska K., Gajewska M., Wilczak J., Harasym J., Gromadzka-Ostrowska J., 2019. Beneficial effects of oat beta-glucan dietary supplementation in

colitis depend on its molecular weight. *Molecules* 24(19), 3591; doi.org/10.3390/molecules24193591.

Prace zostały opublikowane w czasopismach z listy Journal Citation Reports (JCR), przyporządkowanych do dyscypliny technologia żywności i żywienia wg MNiSW. Na podkreślenie zasługują ilościowe wskaźniki charakteryzujące publikacje wchodzące w skład monotematycznego cyklu. Łączna liczba punktów wg listy MNiSW z roku ukazania się artykułów wynosi 340 pkt, a wartość współczynnika IF 11,831 (wartość z ostatnich 5 lat). Rozprawa doktorska została przygotowana w ramach projektu NCN pt. „Wpływ rozpuszczalnej frakcji beta-glukanów owsa na nieswoiste stany zapalne jelit” (nr grantu 2015/17/B/NZ9/01774, konkurs OPUS 9), finansowanego w latach 2016-2019. Kierownikiem projektu była prof. dr hab. Joanna Gromadzka-Ostrowska. W pierwszej publikacji, wchodzącej w skład cyklu, Doktorantka jest drugim autorem, a w dwóch kolejnych pierwszym autorem. Zgodnie z deklaracją i oświadczeniami współautorów, jej udział w przygotowaniu manuskryptów wynosił 35%-40%.

Przedstawiona do recenzji praca zawiera streszczenie w j. polskim i angielskim, wykaz wybranych skrótów, wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia, wstęp, uzasadnienie podjęcia tematu w oparciu o dane literaturowe, zakres zagadnień, cel badań i hipotezy badawcze, metodykę badań, syntetyczne omówienie wyników zawartych w artykułach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, podsumowanie wyników i ich dyskusję, wnioski, bibliografię (76 pozycji literaturowych) oraz załączniki. W rozdziale 10 „Załączniki” zamieszczono kopie każdego z artykułów.

Ocena merytoryczna pracy

W przedstawionej do recenzji pracy podjęta problematyka badawcza wpisuje się w nurt badań z zakresu nauk o żywności i żywieniu. Należy podkreślić, że wybrany temat jest bardzo aktualny ponieważ poszukuje się różnych metod, w tym rozwiązań dietetycznych, skutecznego leczenia choroby Leśniowskiego-Crohna. Jednocześnie w ostatnich latach wzrasta liczba osób ze zdiagnozowanymi nieswoistymi stanami zapalnymi jelit, w tym z chorobą Leśniowskiego-Crohna, zwłaszcza w Europie i Ameryce Północnej. Pierwszy raz schorzenie to zostało opisane w latach 30 ubiegłego stulecia. Niestety do tej pory nie udało się opracować skutecznego postępowania terapeutycznego, którego efektem byłoby całkowite wyleczenie pacjentów. Bardzo ważnym elementem leczenia pacjentów jest dieta, która m.in. w okresie remisji powinna być wysokoenergetyczna, bogatobiałkowa oraz o obniżonej zawartości błonnika pokarmowego. Niemniej jednak w wielu opracowaniach pojawiają się

informacje, że stosowanie wybranych frakcji błonnika rozpuszczalnego, w postaci suplementów, wpływa istotnie na poprawę samopoczucia pacjentów i wydłużenie okresu remisji. Dlatego też badania dotyczące wpływu różnych substancji, w tym rozpuszczalnych frakcji błonnika pokarmowego, na funkcję układu immunologicznego w przebiegu ww. jednostki chorobowej są bardzo ważnym elementem badań. Potwierdzeniem jest finansowanie projektu na podstawie którego została przygotowana niniejsza praca doktorska z Narodowego Centrum Nauki w konkursie Opus.

Celem naukowym pracy było określenie wpływu zawartych w pokarmie szczurów chemicznie czystych frakcji beta-glukanów z owsa, o zróżnicowanej masie molowej, na przebieg eksperymentalnie wywołanego u zwierząt modelowych stanu zapalnego. Wyznaczono następujące hipotezy badawcze:

1. Beta-glukany z owsa podawane w pokarmie mogą obniżać parametry stanu zapalnego w jelicie grubym.
2. Beta-glukany z owsa podawane w pokarmie zmieniają ekspresję genów stanu zapalnego w komórkach ściany jelita grubego.
3. Istnieje różnica w modulowaniu przez obie frakcje beta-glukanów z owsa w jelicie grubym stężenia białek i ekspresji genów parametrów immunologicznych.

Postawione hipotezy badawcze zostały zweryfikowane przez prawidłowo zaplanowane doświadczenie z udziałem zwierząt oraz analizy w materiale biologicznym. W rozdziale „Materiał badawczy” mgr inż. Ewa Żyła szczegółowo opisała preparaty beta-glukanów, o małej i dużej masie molowej użyte do przygotowania diet eksperymentalnych. Preparaty te zostały bardzo dokładnie scharakteryzowane w publikacji 1 wchodzącej w skład monografii. Przebieg doświadczenia, na podstawie, którego powstały dwa kolejne artykuły, bardzo dobrze ilustruje Rycina 1. Z pełnym uznaniem stwierdzam, że wybór szczurów stada niekrewniaczego Sparque-Dawley, wprowadzenie tzw. negatywnej kontroli czyli zwierząt, którym doodbytniczo podawano 0,9% roztwór chlorku sodu, wywołanie stanu zapalnego w jelicie grubym przez dwukrotne doodbytnicze podanie roztworu etanolowego kwasu pikrynowego, długość doświadczenia, analizy w homogenatach z jelita grubego oraz w samym jelicie pozwoliły w pełni zrealizować cel naukowy i zweryfikować hipotezy badawcze. Przeprowadzone analizy świadczą o dużej wiedzy Doktorantki z zakresu przeprowadzania analiz laboratoryjnych oraz dojrzałości naukowej. Należy podkreślić, że badania w obszarze nutrigenomiki mogą wyjaśnić w dokładny sposób mechanizm działania beta-glukanów na poziomie komórkowym.

Po lekturze rozdziału „Cel pracy i hipotezy badawcze” oraz „Metodyka badań” recenzentowi nasuwają się następujące uwagi:

- czy nie należało wyodrębnić celu pracy oraz hipotezy badawczej dotyczących izolacji oraz charakterystyki preparatów beta-glukanów pozyskanych z owsa, użytych do przygotowania diet eksperymentalnych;
- na str. 29 podano informacje dotyczące przebiegu doświadczenia oraz zgody II Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Warszawie powinny być przeniesione do punktu 4.2. na str. 26;
- rozdział „Materiały metody” powinien być uzupełniony o podrozdział „Analiza statystyczna wyników”.

Proszę też o informacje jakimi kryteriami kierowała się doktorantka wybierając długość doświadczenia z udziałem zwierząt.

Na podstawie analiz z doświadczenia żywieniowego Doktorantka przygotowała dwa artykuły, w których wyniki zostały przedstawione w zależności długości doświadczenia. W publikacji pt. „Anti-inflammatory activity of oat beta-glucans in a crohn's disease model: time- and molar mass-dependent effects” przedstawiono wyniki analiz w materiale biologicznym z grup żywionych preparatami beta-glukanów przez 3 i 7 dni. W kolejnej publikacji pt. „Beneficial effects of oat beta-glucan dietary supplementation in colitis depend on its molecular weight” Doktorantka opisała wyniki badań po 21 dniach doświadczenia.

Na podstawie wyników badań, stwierdzono, że beta-glukany o małej masie molowej, dodawane do diety w ilości 1% po 7 dniach skuteczniej wyciszyły stan zapalny w jelicie grubym w porównaniu do preparatu o dużej masie molowej. Było potwierdzone przez zmniejszenie stężenia IL-1, IL-6 i IL-12, ekspresji genów wybranych cytokin prozapalnych oraz obraz histologiczny jelit. Podobne wnioski wysunięto także w przypadku wyciszenia zmian zapalnych po 21 dniach doświadczenia. Cennym uzupełnieniem byłoby dodanie informacji na temat zmian w krwi, przynajmniej kilku ww. cytokin.

Proszę by podczas publicznej obrony Doktorantka omówiła aktualny stan wiedzy na temat postępowania dietetycznego u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna.

Przeprowadzone przez Kandydatkę doświadczenie żywieniowe z udziałem zwierząt laboratoryjnych, badania analityczne na materiale biologicznym, z użyciem nowoczesnych technik oraz analiza statystyczna wyników zostały prawidłowo zaplanowane i konsekwentnie zrealizowane. Należy podkreślić, że tego typu badania wymagają dużej umiejętności, wiedzy dokładności i cierpliwości są też bardzo czasochłonne.

Praca doktorska Pani mgr inż. Ewy Żyły charakteryzuje się wysokim poziomem

naukowym i wnosi cenny wkład w dziedzinę technologii żywności i żywienia. Dysertacja ta ma także charakter aplikacyjny ponieważ zaplanowanie dalszych badań na preparatach beta-glukanów z udziałem ludzi może przyczynić się do wyciszenia procesu zapalnego u osób ze zdiagnozowaną chorobą Leśniowskiego-Crohna oraz poprawy jakości życia.

Wskazane niedociągnięcia nie mają wpływu na wysoką wartość merytoryczną pracy.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska pt. „Wpływ beta-glukanów owsa na przebieg stanu zapalnego jelita grubego”, wykonana przez Panią mgr inż. **Ewę Żyłę**, spełnia wymagania Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (Dz.U.03. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami).

Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Technologii Żywności i Żywienia Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie Pani mgr inż. **Ewy Żyły** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Anneta Kopeć