

Recenzja

rozprawy doktorskiej **mgr Marty Żebrowskiej pt. „Ocena wpływu WPC-80 na wybrane egzoglikozydazy lizosomalne w wątrobie szczurów ”**

Podlasie to zielone płuca Polski i region rozwiniętego przemysłu mleczarskiego. Jednym z produktów przemysłu mleczarskiego jest serwatka powstająca podczas produkcji serów. Dawniej serwatka, zawierająca białka, witaminy, tłuszcze i minerały, była odpadem produkcyjnym. Obecnie przemysł mleczarski izoluje z serwatki białka w postaci koncentratów o zawartości białka od 35-80%. Koncentraty białkowe pochodzące z serwatki wykorzystują głównie przemysł spożywczy i farmaceutyczny. Białka serwatkowe znalazły zastosowanie jako składniki suplementów diety sportowców, oraz mieszanek dla dzieci zdrowych i dzieci z nadwrażliwością na białka mleka krowiego. Stąd ocena wpływu koncentratu białek serwatki mleka krowiego na katabolizm glikokoniugatów w wątrobie na modelu zwierzęcym, jako przedmiot rozprawy doktorskiej **magistra dietetyki Marty Żebrowskiej**, jest uzasadniona z powodów dietetycznych, medycznych i ekonomicznych.

Dostarczona do recenzji **praca** obejmuje 143 strony maszynopisu, w tym 27 tabel, 39 rycin, 133 pozycji piśmiennictwa - głównie anglojęzycznego, z ostatnich lat, oraz 2 załączniki zawierające wyniki analizy WPC-80 określającej: zawartość białka, błonnika pokarmowego, cukrów, popiołu, tłuszczów, skład aminokwasowy, zawartość witamin: B₁₂, D₃, K₃, retinolu, tiaminy, ryboflawiny, pirydoksyny, α-tokoferolu, kwasów tłuszczowych; kationów metali: cynku, magnezu, miedzi, potasu, wapnia, żelaza oraz anionów fosforanowych.

We **wstępie**, Autorka zwięźle omawia skład, biologiczne efekty działania i zastosowanie koncentratu serwatki z mleka krowiego zawierającego 80% białka (**WPC-80 – Whey Protein Concentrate**) oraz dietę bogatobiałkową. Następnie opisuje budowę i czynność wątroby, metabolizm aminokwasów, budowę glikokoniugatów, egzoglikozydazy i ich znaczenie kliniczne.

Celem pracy była ocena wpływu WPC-80 na aktywność specyficzną głównych egzoglikozydaz lizosomalnych w tkance wątrobowej.

W **materiałach i metodach** Autorka opisała: warunki hodowli szczurów i sposób podawania dożołądkowego białek WPC-80; odczynniki chemiczne i aparaturę używane w pracy, oraz metodykę oznaczania białek wątrobowych i poszczególnych egzoglikozydaz. Opisała także sposób oceny składu WPC-80. Analizę statystyczną przeprowadziła za pomocą pakietu statystycznego Statistica 12. (Statsoft, Tulsa, OK, USA) oraz GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, USA) wykorzystując testy nieparametryczne: Manna-Whitney'a oraz test ANOVA Kruskalla- Walisa. Do oceny zależności między danymi ilościowymi zastosowała korelację rang Spearmana.

Autorka **zestawiła wyniki** w postaci 6 tabel i 27 rycin. Zależności pomiędzy aktywnościami specyficznymi egzoglikozydaz wątroby a innymi parametrami Autorka zamieściła w postaci 5 tabel. Liczebności szczurów w badanych grupach (7-10 szczurów) umożliwiły wystarczająco precyzyjną analizę statystyczną otrzymanych wyników. Badane parametry Autorka porównywała w układzie: szczury kontrolne- szczury żywione WPC-80 przez 7, 14 i 21 dni.

Omówienie wyników i rzeczowa dyskusja są przeprowadzone wyczerpująco, zwięźle i logicznie, co świadczy o znajomości literatury przedmiotu oraz dojrzałości naukowej Doktorantki.

Po analizie wyników i dyskusji, Autorka doszła do następujących **wniosek**:

1. Aktywność specyficzną HEX, GLU, MAN oraz FUC wątroby szczurów zależy od diety wysokobiałkowej.
2. Czas karmienia szczurów dietą wzbogaconą WPC-80 jest zasadniczym parametrem regulującym aktywność specyficzną egzoglikozydaz wątroby.
3. WPC-80 znacząco nasila katabolizm glikokoniugatów oraz przebudowę tkanek wątroby.
4. Dieta wzbogacona WPC-80 przez 14 dni może upośledzać funkcję wątroby w zakresie działania egzoglikozydaz.

Podczas przygotowania pracy do druku proponuję :

1. Zrezygnować z pojęcia **amidowa asparagina**, zostawiając słowo *asparagina*, ponieważ zgodnie z podręcznikiem Biochemia. E. Bańkowskiego . str. 5-6, wyd. MedPharma Polska, 2006), asparagina (Asn, N) jest amidem kwasu asparaginowego i słowo „amidowa” jest niepotrzebne. Skrót literowy kwasu asparaginowego to Asp, D)
2. Dla ATP zamiast *adenozynotrójfosforan* proponuję *adenozynotryfosforan* zgodnie z zapisem w podręczniku Biochemia E. Bańkowskiego . str. 69, wyd. MedPharma Polska, 2006).
3. Wyrzucić jeden z dwu skrótów : *GST- transferaza glutationowa* ze str.3 lub 4.
4. Na ryc. 1 (str. 12) w środkowym kółku proponuję napisać „**DZIAŁANIE SERWATKP**” a w pozostałych kółkach zrezygnować z powtarzania słowa „DZIAŁANIE”.
5. Zdanie” *Podstawową jednostką budulcową białek są aminokwasy- organiczne związki chemiczne zawierające grupę aminową oraz hydroksylową , w których grupa aminowa występuje zwykle przy pierwszym atomie węgla (wyjątek prolina)”* (str. 18, wiersze 6-8), wymaga komentarza. Z podręcznika Biochemia E.Bańkowskiego, str. 3-9, wyd. MedPharma Polska, 2006) wynika, że aminokwasy mogą zawierać grupę hydroksylową (alkoholową), jak seryna, treonina, hydroksyprolina i hydroksylizyna, ale nie muszą. Natomiast **muszą zawierać co najmniej jedną grupę karboksylową (-COOH) i aminową (-NH₂)**. W aminokwasach występujących w białkach zwykle pierwszy węgiel jest utleniony do grupy karboksylowej a do drugiego (a nie pierwszego węgla) jest dołączona grupa aminowa. Podobnie jest z proliną, która jest cyklicznym aminokwasem.
6. Proponuję słowo **glikozylacja** stosować do końcowego etapu biosyntezy glikoprotein polegającego na dobudowaniu do białek łańcuchów cukrowych wiązaniami N- lub O-glikozydowymi, przy pomocy odpowiednich enzymów. Natomiast na str. 27 tekstu doktoratu doktorantka **opisała glikację** nazywając ją błędnie glikozylacją.
7. Składnikiem glikolipidów obojętnych jest cukier obojętny taki jak glukoza (składnik glikozyloceramidów) lub galaktoza (składnik galaktozyloceramidów)(str. 29).
8. Na str. 29 (w 10 wierszu od góry) tekstu rozprawy doktorskiej jest „**gangliozydy**” a powinno być „**gangliozydy**”.
9. Na str. 36 brak zakończenia zdania rozpoczętego w 2 wierszu od góry, natomiast na str. 36, (w 4 wierszu od dołu) jest „**produktami** tej reakcji są więc glukuroniany”, a powinno być „**substratami** tej reakcji są glukuroniany”.
10. We wszystkich rycinach prezentujących wyniki proponuję od lewej strony umieścić słupki dotyczące grupy kontrolnej, a na prawo od kontroli słupki dotyczące pozostałych grup.
11. W tytule ryciny 12 proponuję napisać „**Wzrost** masy szczurów po zastosowaniu WPC-80 w dawce 0,3 g/kg m.c.) zamiast „**Zmiana** masy szczurów po zastosowaniu WPC-80 w dawce 0,3 g/kg m.c.”, bo trudno było mi zorientować się czy to dobra czy zła zmiana.
12. W tytule ryciny 13 proponuję napisać „**Zachowanie się** masy szczurów po zastosowaniu WPC-80 w dawce 0,3 g/kg m.c.) zamiast „**Zmiana** masy szczurów po zastosowaniu WPC-80 w dawce 0,5 g/kg m.c.”, bo po 7 i 14 dniach karmienia nie było istotnych statystycznie zmian.
13. W tytule ryciny 14 proponuję napisać „**Wzrost** masy szczurów w grupie kontrolnej podczas upływu czasu” zamiast „**Zmiany** masy szczurów w grupie kontrolnej”
14. W tytule ryciny 15 proponuję napisać „**Wpływ karmienia** WPC-80 na masę wątroby szczurów”
15. W tytule ryciny 16, 17 i 18 proponuję napisać „**Wpływ dawki** WPC-80 podawanej przez 7 (Ryc 16), 14 (Ryc,17) i 21(Ryc 18) dni szczurom na aktywność specyficzną HEX w tkance wątrobowej”.
16. W tytule ryc. 19 proponuję napisać „**Wpływ dawki i czasu** podawania WPC-80 na aktywność specyficzną HEX w wątrobach szczurów”
17. W tytule ryc. 20 proponuję napisać „**Wpływ dawki** WPC-80 podawanego przez 7 dni na aktywność specyficzną GAL w wątrobach szczurów”
18. W tytule ryc. 21 proponuję napisać „**Wpływ dawki** WPC-80 podawanego przez 14 dni na aktywność specyficzną GAL w wątrobach szczurów”
19. W tytule ryc. 22 proponuję napisać „**Wpływ dawki** WPC-80 podawanego przez 21 dni na aktywność specyficzną GAL w wątrobach szczurów”. Podobnie proponuję opisać wpływ dawki WPC-80 na aktywność specyficzną pozostałych enzymów.

20. We wstępie proponuję zmniejszyć ilość zaimków na korzyść rzeczowników.
21. W dyskusji (str. 95) „immunoglobuliny, albuminy, laktoferynę oraz laktoperoksydazę” zaliczyć do białek, a nie peptydów, ponieważ wg E.Bańkowskiego –Podręcznik Biochemia dla studentów studiów licencjackich i magisterskich, wyd. MedFarm, Polska, Wrocław 2006, „zwyczajowo uznaje się że produkt zawierający ponad 100 reszt aminokwasowych i wykazujący masę cząsteczkową powyżej 10 000 kDa jest białkiem”. Str. 104 – proponuję zamiast wyrażenia „wolne formy reaktywne” użyć „wolne rodniki” oraz zamiast „węglowodanów w kwasach nukleinowych” użyć „pentoz w kwasach nukleinowych”. Str. 106- proponuję zamiast „Białka serwatkowe pełnią różnorodne funkcje biologiczne „ napisać „Podawanie białek serwatkowych ma wpływ na różnorodne funkcje biologiczne”
22. W spisie piśmiennictwa proponuję:
 - a) przyjąć jednolitą formę cytowania pozycji literaturowych napisanych po polsku, z polskich czasopism: albo tylko po polsku, albo tylko po angielsku albo po polsku i angielsku. Wydaje mi się że w polskiej pracy promocyjnej, np. doktorskiej, polskie piśmiennictwo powinno być cytowane tylko po polsku,
 - b) w tytule pracy dużą literą pisać tylko pierwszy wyraz, a nie wszystkie, jak w poz. 42, 52, 93, 128.

W podsumowaniu stwierdzam, że praca doktorska mgr Marty Żebrowskiej zakresem stosowanych metod i otrzymanych wyników, a także sposobem dokumentacji wyników odpowiada pracom doktorskim.

Stwierdzam, że nieliczne niedociągnięcia redakcyjne, które należy usunąć podczas przygotowywania pracy do druku, nie mają istotnego wpływu na wartość pracy doktorskiej **magister Marty Żebrowskiej pt. „Ocena wpływu WPC-80 na wybrane egzoglikozydazy lizosomalne w wątrobie szczurów ” którą oceniam pozytywnie i stwierdzam, że spełnia ona warunki** określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz .U. Nr 65 poz.595 ze zm. Dz. U. z 2005r nr 164, poz.1365) oraz Rozporządzeniu Ministra Edukacji Narodowej i Sportu w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora, z dnia 15 stycznia 2004 roku (Dz .U. Nr 15, poz. 128) stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora.

Przedkładam wniosek Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie **magister Marty Żebrowskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n.med. Krzysztof Zwierz

