

Dr hab. n. farm. Hanna Mojska, prof. nadzw. IŻŻ
Zakład Metabolomiki
Instytut Żywności i Żywienia
im. Prof. dra med. Aleksandra Szczygła
ul. Powsińska 61/63, 02-903 Warszawa

Warszawa, 20.05.2019r.

Recenzja

pracy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Bzikowskiej - Jury

pt. "Analiza sposobu żywienia i stanu odżywienia kobiet w okresie laktacji i ich wpływ na skład mleka kobiecego",

wykonanej pod kierunkiem Pani dr hab. n. med. Haliny Weker, na Wydziale Nauki o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Agnieszki Bzikowskiej - Jury oparta jest na zbiorze trzech jednotematycznych publikacji dotyczących oceny wpływu sposobu żywienia kobiet karmiących piersią oraz stanu ich odżywienia na wartość energetyczną i poziom makroskładników w mleku kobiecym. Pierwsza praca jest pracą pogładową, dwie pozostałe oryginalnymi pracami badawczymi. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem a w dwóch również autorem do korespondencji. Jej wkład w przygotowanie publikacji wynosił od 40% do 65%, co zostało potwierdzone stosownymi oświadczeniami współautorów publikacji (od 4 do 6). Prace te zostały opublikowane w latach 2017 - 2018 w czasopismach krajowych (*Polski Mercuriusz Lekarski* i *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*) oraz w czasopiśmie z listy *Journal Citation Reports (Nutrients)*. Zgodnie z oświadczeniem Doktorantki Jej wkład w badania, których wyniki przedstawiono w ostatniej z w/w prac polegał na udziale w opracowaniu koncepcji i metodologii badań, prowadzeniu badań i analizowaniu zebranych danych, w przygotowaniu publikacji oraz pozyskaniu środków finansowych na badania (Grant Młodego Naukowca).

Na podkreślenie zasługują ilościowe wskaźniki charakteryzujące publikacje wchodzące w skład monotematycznego cyklu. Współczynnik wpływu (*impact factor*) czasopisma z listy JCR wynosi 4,196 a sumaryczna liczba punktów MNiSW wszystkich publikacji wynosi 56. Przedstawione artykuły zostały opublikowane w znanych czasopismach i przeszły procedurę weryfikacyjną w postaci recenzji, należy uznać zatem, że ich poziom jest wysoki.

Mleko matki jest najlepszym pokarmem dla noworodków i niemowląt. Dostarcza wszystkich niezbędnych dla prawidłowego rozwoju dziecka składników odżywczych. Mleko kobiece jest łatwo przyswajalne a ze względu na obecność składników bioaktywnych, które w mleku innych ssaków nie występują w ogóle lub są obecne w znacząco mniejszych ilościach niż w mleku ludzkim, stanowi naturalną ochronę przed chorobami bakteryjnymi i wirusowymi oraz alergiami. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zaleca wyłączne karmienie piersią przez pierwszych 6 miesięcy życia dziecka i utrzymywanie karmienia

naturalnego, wraz z wprowadzaniem pokarmów uzupełniających, do drugiego roku życia. Należy podkreślić, że dotychczas, pomimo intensywnych badań w tym zakresie, nie udało się odwzorować składu mleka ludzkiego. Jest to zrozumiałe ze względu na fakt, że mleko ludzkie jest „żywą tkanką”, jego skład zmienia się wraz z okresem laktacji a w pewnym stopniu jest również odpowiedzią organizmu matki na zapotrzebowanie dziecka. Sposób żywienia i stan odżywienia kobiety karmiącej piersią może również wpływać na poziom składników odżywczych w jej mleku. Należy podkreślić, że pomimo prowadzonych od wielu lat badań w tym zakresie i licznych danych, w odniesieniu do wybranych składników odżywczych obecnych w diecie matki, ale również w jej zapasach tkankowych nadal brak jednoznacznego potwierdzenia w jakim stopniu wpływają na skład jej mleka.

Dlatego podjęcie wyżej wymienionych badań przez Panią mgr Agnieszkę Bzikowską - Jurę uważam za ważne i w pełni uzasadnione.

Do cyklu trzech publikacji wchodzących w skład rozprawy Doktorantka dołączyła 46-stronicowe wprowadzenie składające się ze wstępu, celu podjętych badań, materiału i zastosowanych metod badawczych, syntetycznego omówienia publikacji stanowiących rozprawę doktorską, dyskusji i podsumowania w postaci sześciu wniosków oraz piśmiennictwa zawierającego 66 pozycji literatury. Na początku pracy Autorka zamieściła streszczenie w języku polskim i angielskim oraz spis treści i wykaz stosowanych skrótów.

We wstępie Doktorantka przedstawiła charakterystykę problemu i uzasadnienie podjęcia badań. W kolejnych podrozdziałach, które stanowią *de facto* przegląd literatury, zaprezentowała w syntetyczny sposób fizjologię procesu laktacji, czynniki żywieniowe, które na ten proces wpływają, zapotrzebowanie na makro i mikroskładniki odżywcze w okresie laktacji oraz aktualne zalecenia w tym zakresie. Ponadto Autorka przedstawiła wskaźniki stanu odżywienia i metody jego oceny. W końcowej części wstępu Doktorantka omówiła skład mleka kobiecego, zwracając uwagę na zmienność składu związaną m.in. z długością trwania ciąży, okresem laktacji, porą dnia i zmianami w trakcie pojedynczego karmienia. Zamieszczone dane poparła licznymi cytatami z bibliografii zawierającej aktualne pozycje literaturowe. Świadczy to o dobrej znajomości piśmiennictwa i zagadnień związanych z tematyką realizowanej pracy. Uzasadniają one w pełni sformułowanie celu badań oraz wybór metod badawczych.

Celem recenzowanej pracy było określenie zależności pomiędzy składem mleka kobiecego a stanem odżywienia i sposobem żywienia kobiet karmiących piersią.

Do realizacji głównego celu badań Doktorantka sformułowała cele szczegółowe, które obejmowały przegląd aktualnych badań związanych z podjętą tematyką oraz następujące 3 zasadnicze kierunki badań prowadzonych w trzech różnych okresach laktacji: ocenę sposobu żywienia kobiet karmiących piersią oraz ocenę stanu ich odżywienia z uwzględnieniem zmian zachodzących pomiędzy tymi okresami a także badanie składu mleka kobiecego w w/w okresach laktacji, z uwzględnieniem zmian w jego składzie w miarę postępu trwania karmienia piersią.

Cel pracy został sformułowany precyzyjnie a cele cząstkowe szczegółowo określiły plan i zakres badań. Szkoda, że Autorka ani we Wstępie ani w Celu pracy nie postawiła hipotez badawczych.

W rozdziale Materiał i metody Doktorantka w sposób jasny przedstawiła grupę badaną wraz z kryteriami włączenia do grupy i wyłączenia z udziału w badaniach, liczebność grupy i etapy badań. Precyzyjnie opisała metodę zbierania danych dotyczących sposobu żywienia i analizę uzyskanych danych, metody oceny stanu odżywienia: - z wykorzystaniem obliczonych wskaźników BMI na podstawie pomiarów antropometrycznych (wysokość i masa ciała) oraz - z wykorzystaniem oceny składu ciała metodą bioimpedancji elektrycznej oraz metodę analizy próbek mleka kobiecego z wykorzystaniem analizatora składu mleka, w celu oznaczenia makroskładników (białko, tłuszcz, węglowodany) i wartości energetycznej. Przedstawiona rozprawa doktorska została wykonana za pomocą właściwych metod badawczych. Drobną uwagą do tej części dotyczy braku schematu badań. Taki schemat przedstawiający jakie badania, w którym okresie były prowadzone ułatwiłby późniejszą ocenę wyników badań.

W dalszej części przedstawionej dokumentacji Doktorantka syntetycznie omówiła rezultaty badań w poszczególnych publikacjach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Na zakończenie opisu Doktorantka zamieściła dyskusję i podsumowanie w postaci trafnie sformułowanych wniosków.

Z obowiązku recenzenta muszę również wskazać na drobne błędy, które wystąpiły w tej części pracy:

1/ rozdz. 1.4 Skład mleka kobiecego

- w tytule tabeli 2 błędnie zacytowano pozycję Piśmiennictwa, powinno być „34”;

- w tabeli 2 błędnie podano nazwy kwasów tłuszczowych: powinno być „kwas palmitynowy” (16:0) a nie palmowy. Zwracam uwagę, że w przypadku kwasu linolenowego należy na początku dodać literę identyfikującą kwas np. „ α ” lub „ γ ” oraz rodzinę. Dodatkowo w tłumaczeniu nastąpił błąd. Podana zawartość w mleku kobiecym: 6,8% i 7,2% odpowiada przeciętnej zawartości kwasu linolowego (18:2 n6) (ang. *linoleic acid*) a nie α -linolenowego (18:3 n3) (ang. *linolenic acid*). Z tego powodu warto przy nazwach kwasów podawanych w tekście po raz pierwszy podać w nawiasie wzór sumaryczny wraz z rodziną (n9, n6, n3);

- jednostki w jakich podawana jest zawartość poszczególnych składników mleka kobiecego wyrażane są w liczbach rzeczywistych np. mg/100 ml lub w wartościach bezwzględnych (%). W tym ostatnim przypadku brak wskazania jakiej wartości dotyczy procent może być powodem błędnych informacji. Np. na stronie 23 podano, że stężenie trójglicerydów (prawidłowa nazwa to triglicerydy lub triacyloglicerole) w mleku kobiecym wynosi około 9% całkowitej zawartości tłuszczów. Tymczasem przeciętna zawartość triglicerydów w mleku kobiecym waha się w zakresie od ponad 98% do ponad 99% całkowitej zawartości tłuszczu.

2/ rozdz. 3.5 Badanie składu mleka kobiecego

- powinno być: „próbkę mleka o objętości 10-12 ml”.

3/ W teście błędnie zacytowano pozycje literaturowe. Poza wspomnianą wyżej pozycją „38” zamiast „34”, na str. 37 powinno być „44” zamiast „48”. Mam wątpliwości również do cytowanej na tej samej stronie pozycji „33”. W przypadku powoływania się na rekomendacje WHO należy przywołać tekst źródłowy.

Pragnę podkreślić, że powyższe uwagi i sugestie mają charakter redakcyjny i nie umniejszają wartości merytorycznej pracy.

W pierwszym artykule naukowym [*Pol. Merkur. Lekarski* 2017; 43 (258), 276-280] wchodzącym w skład rozprawy doktorskiej Autorka dokonała przeglądu piśmiennictwa z zakresu wpływu czynników fizjologicznych i żywieniowych na skład mleka kobiecego. Z dostępnej literatury wynika, że zawartość większości składników odżywczych w mleku kobiecym zmienia się wraz z dojrzewaniem mleka kobiecego. Jednak wpływ sposobu żywienia a więc obecności makro i mikroskładników w diecie na ich poziom w mleku kobiecym nie jest jednoznaczny. Stosunkowo dobrze udokumentowane są wyniki dotyczące dodatnich związków pomiędzy spożyciem długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (LC-PUFA) a ich poziomem w mleku kobiecym oraz wybranymi witaminami z grupy B i witaminą D. Doktorantka słusznie podkreśla trudności w porównywaniu wyników badań związane z metodyką pobierania próbek do badań (okres laktacji, pora dnia, przed/po karmieniu dziecka), liczebnością grup badawczych oraz stosowanymi metodami analiz chemicznych. Dokonany przegląd właściwie uzasadnia podjęcia badań eksperymentalnych.

W drugim artykule naukowym [*Rocz. Państw. Zakł. Hig.* 2018; 69 (4), 363-367] Doktorantka analizowała zależność pomiędzy składem mleka kobiecego a stanem odżywienia kobiety w pierwszym miesiącu karmienia piersią. W pobranych od 40 kobiet próbkach mleka kobiecego oznaczono zawartość białka całkowitego i odżywczego, tłuszczu, węglowodanów, suchej masy oraz wartość energetyczną za pomocą analizatora HMA MIRIS metodą spektroskopii w podczerwieni. Stan odżywienia został oceniony poprzez wyliczenie wskaźników BMI na podstawie pomiarów wysokości i masy ciała. Przeciętna zawartość badanych składników odżywczych w mleku kobiecym była typowa dla tego okresu laktacji. Większość (75%) uczestniczek badania miało prawidłowy BMI. Autorka na podstawie przeprowadzonych badań stwierdziła istotną dodatnią korelację pomiędzy stanem odżywienia, wyrażonym jako BMI, zarówno aktualnym, jak i przed ciążą a zawartością w mleku kobiecym tłuszczu oraz suchą masą i wartością energetyczną mleka. W przypadku pozostałych badanych makroskładników związków takich nie stwierdzono. W opinii recenzenta na szczególne podkreślenie zasługuje zastosowana metoda 24-godzinnej zbiórki mleka kobiecego według przygotowanej procedury. Metoda ta pozwala na uzyskanie wiarygodnych wyników, ograniczając w znaczącym stopniu, jeśli nawet nie eliminując całkowicie, wpływ czynników fizjologicznych związanych m.in. z porą dnia, kolejnością karmienia, zmiennością składu mleka w trakcie pojedynczego karmienia. Chciałabym zwrócić uwagę, że wybór takiej metody pobierania próbek znacznie utrudnia przeprowadzenie badania, ponieważ bardzo ogranicza dostępność materiału badawczego, ze względu na uciążliwość dla uczestniczek badania. Dlatego wysoko oceniam zastosowanie właśnie takiej metody pobierania próbek w badaniach Doktorantki. Jest to mocna strona przeprowadzonych badań. Kolejnym ważnym elementem badań jest wybór nowoczesnej metody analitycznej (spektroskopia w podczerwieni) do badania składu mleka kobiecego. Zastosowanie jednego analizatora dla oznaczenia wszystkich wybranych do oceny składników eliminuje wpływ czynników związanych z samym procesem analitycznym, występujących nieodłącznie w sytuacji, gdy każdy składnik oznaczany jest oddzielnie, różnymi metodami analitycznymi, najczęściej przez różnych analityków.

W trzeciej pracy [*Nutrients* 2018; 10, 1379, 3–15], Autorka badała związek pomiędzy sposobem żywienia i stanem odżywienia kobiet karmiących piersią a poziomem wybranych

składników odżywczych w mleku kobiecym. Badania przeprowadzono w 1, 3 i 6 miesiącu karmienia piersią w grupie, odpowiednio, 40, 22 i 15 kobiet. Sposób żywienia oceniono za pomocą 3-dniowego wywiadu żywieniowego prowadzonego metodą zapisu. Stan odżywienia poprzez obliczenie wskaźnika BMI i analizę składu ciała metodą bioimpedancji (BIA), w której ocenia się opór tkankowy organizmu na działanie prądu o natężeniu $800 \mu\text{A}$ i częstotliwości 50kHz. Przy wykorzystaniu BIA w badanej grupie kobiet oznaczono tłuszczową i beztłuszczową masę ciała, masę mięśniową, całkowitą zawartość wody w organizmie i zawartość białka. W każdym z trzech badanych okresów laktacji w 24-godzinnych próbkach mleka wykonane zostały oznaczenia wartości energetycznej i makroskładników. Na podstawie wywiadów żywieniowych Doktorantka wykazała, brak istotnych różnic w pobraniu składników odżywczych z dietą pomiędzy badanymi okresami laktacji. Ponadto stwierdziła, że u wszystkich kobiet uczestniczących w badaniu obserwowane jest ryzyko niedoboru energii i witaminy D. Nie obserwowano istotnych różnic w składzie ciała pomiędzy 6 a 1 miesiącem laktacji. W odniesieniu do składników mleka kobiecego stwierdzony był statystycznie istotny trend obniżania zawartości białka w mleku kobiecym, potwierdzający wcześniejsze obserwacje innych autorów. Analizując związek pomiędzy zawartością składników odżywczych w diecie a poziomem makroskładników w mleku kobiecym, Doktorantka potwierdziła wcześniejsze obserwacje innych autorów, nie stwierdzając istotnych korelacji. Ważną obserwacją było stwierdzenie dodatniej korelacji pomiędzy poziomem białka w mleku kobiecym a masą ciała, BMI, procentową zawartością tkanki tłuszczowej i masą mięśniową wyrażoną w kg. Uzyskane wyniki potwierdzają związek pomiędzy stanem odżywienia kobiet karmiących piersią a zawartością białka w ich mleku. Na podkreślenie zasługuje zastosowanie, do oceny stanu odżywienia, badania składu ciała z wykorzystaniem obiektywnej metody instrumentalnej, jaka jest bioimpedancja elektryczna.

W opinii recenzenta spośród wyżej wymienionych trzech publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe będące podstawą rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Bzikowskiej-Jury największe walory poznawcze, ale również aplikacyjne ma Artykuł 3.

Na podstawie przedstawionych wyników stwierdzam, że Doktorantka zrealizowała założone cele badawcze. Przeprowadzone wnikliwie analizy umożliwiły Autorce uzyskanie wiarygodnych wyników badań, które po zastosowaniu analizy statystycznej stały się podstawą do przeprowadzenia dyskusji oraz umożliwiły sformułowanie trafnych wniosków.

Pragnę podkreślić, że przedstawione wcześniej w mojej ocenie pracy uwagi i sugestie mają w większości charakter redakcyjny i nie umniejszają wartości merytorycznej dysertacji.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawione do recenzji osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę postępowania doktorskiego jest oryginalne i wartościowe, a tym samym spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13 ust. 1. Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017r. poz.1789).

W związku z powyższym, proszę Radę Wydziału Nauki o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Bzikowskiej-Jury do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

