



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Nauk o Zdrowiu

Kraków, 12 marca 2024

Prof. dr hab. med. Jan Bilski

e-mail: jan.bilski@uj.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Mateusza Mardyły pt. "Wpływ treningu fizycznego w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na wybrane wskaźniki reologiczne i biochemiczne krwi, stres oksydacyjny oraz skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów u nietreningujących mężczyzn"

Aktywność fizyczna stanowi kluczowy element zdrowego trybu życia, jednak problem nadwagi i otyłości w Europie, w tym w Polsce, stale wzrasta, szczególnie dotykając wcześniej mężczyzn. Czynniki genetyczne, styl życia oraz warunki społeczno-ekonomiczne wywierają istotny wpływ na stan zdrowia jednostki. Mimo prowadzonych kampanii promujących zdrowy styl życia, wielu ludzi, w tym Polaków, pozostaje biernych w zakresie aktywności fizycznej, co świadczy o ograniczonej skuteczności dotychczasowych działań edukacyjnych. Badania potwierdzają korzystny wpływ regularnej aktywności fizycznej na zdrowie psychiczne. Zalecenia dotyczące umiarkowanej i intensywnej aktywności są powszechnie znane, jednak nawet minimalna ilość ruchu jest lepsza niż jego brak. Regularne wykonywanie około 60 minut umiarkowanej aktywności fizycznej trzy razy w tygodniu może znacząco zmniejszyć ryzyko chorób układu sercowo-naczyniowego.

Nowoczesne metody treningowe, takie jak trening w warunkach obniżonego tlenu, dzięki postępowi technologicznemu, zdobywają coraz większą popularność, szczególnie wśród amatorów. Wielu ludzi na świecie mieszka na dużych wysokościach, co przyciąga uwagę badaczy do reakcji organizmu na niedobór tlenu. Istnieją różne modele treningu w warunkach hipoksji, wykorzystujące hipoksję normobaryczną.



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Nauk o Zdrowiu

Hipoksja aktywuje czynnik indukowany hipoksją (ang. *Hypoxia Inducible Factor-1*, HIF-1), który reguluje geny związane z przystosowaniem do niedoboru tlenu. Trening w warunkach hipoksji może zwiększyć wydolność organizmu poprzez adaptacje tkankowe i hematologiczne. Badania potwierdzają poprawę wydolności tlenowej i beztlenowej w treningu w hipoksji, chociaż niektóre doniesienia sugerują brak dodatkowych korzyści w porównaniu z treningiem w warunkach normoksji. Rozwój technologii umożliwia symulację warunków wysokogórskich w klubach sportowych, co może przyczynić się do popularności tej metody wśród rekreacyjnych sportowców.

Celem przedstawionej do oceny dysertacji doktorskiej była ocena zmian spoczynkowych oraz powysiłkowych we właściwościach reologicznych krwi, poziomie wskaźników stresu oksydacyjnego w erytrocytach oraz zawartości kwasów tłuszczowych błon erytrocytów u mężczyzn poddanych 4-tygodniowemu treningowi w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na tle innych grup badanych.

Wybór tematu pracy doktorskiej, który koresponduje z nurtem aktywności badawczej jednostki, kierowanej przez Promotora niniejszej rozprawy - Panią dr hab. Anetę Teległówną, prof. AWF, jest trafny i zgodny z kierunkiem współczesnych badań biomedycznych oraz aktualnym stanem wiedzy. Promotorem pomocniczym jest dr n. med. Jakub Marchewka.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska liczy 140 stron (wliczając streszczenia w języku polskim i angielskim, spis tabel i rycin, wykaz skrótów oraz aneks). Praca zawiera 14 tabel, 6 rycin oraz bogatą bibliografię obejmującą 290 pozycji. Tekst główny (bez streszczeń) został podzielony na siedem rozdziałów.

Układ pracy jest klarowny i konsekwentnie prowadzony. Tekst pracy został podzielony na typowe rozdziały, zachowując właściwe proporcje pomiędzy nimi. Autor rozpoczyna od "Wykazu skrótów i symboli", a następnie przedstawia "Wstęp". Rozdziały merytoryczne zawierają szczegółowe informacje na temat przeprowadzonych badań, uzyskanych wyników i ich interpretacji. Praca bogato ilustrowana jest tabelami i rycinami, które ułatwiają zrozumienie prezentowanych treści.



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Nauk o Zdrowiu

W części metodologicznej znajdują się 2 tabele i 2 ryciny, w tym schemat procedury badawczej oraz zdjęcie próbki z frakcjami erytrocytów w gradiencie gęstości. Pozostałe tabele i ryciny umieszczone zostały w odpowiednich rozdziałach merytorycznych.

Na końcu pracy zamieszczono bibliografię, streszczenia w języku polskim i angielskim, aneks zawierający raporty danych z pomiarów elongacji I, II i III frakcji krwinek czerwonych, Międzynarodowy Kwestionariusz Aktywności Fizycznej, zgodę Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badań oraz wykaz tabel i rycin.

W starannie opracowanym wstępie mgr Mateusz Mardyla, opierając się na obszernej literaturze z zakresu badanego tematu, w sposób kompetentny przedstawia pięć starannie opracowanych podrozdziałów, które dotyczą kluczowych zagadnień badawczych. Są to: "Rola aktywności fizycznej i treningu w utrzymaniu zdrowia", "Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej", "Właściwości morfologiczne i hemoreologiczne krwi", "Stres oksydacyjny", oraz "Kwasy tłuszczowe lipidów błony erytrocytarnej".

W podrozdziale pt. "Rola aktywności fizycznej i treningu w utrzymaniu zdrowia", Doktorant analizuje wpływ aktywności fizycznej na zdrowie, wskazując na narastający problem nadwagi i otyłości w Polsce. Mimo istotnej roli aktywności fizycznej w prewencji chorób, wiele osób nadal pozostaje biernych, co wymaga kontynuacji działań edukacyjnych i promocyjnych. Rozwój nowych metod treningowych, takich jak symulacja warunków wysokogórskich, może wspomóc zachęcanie społeczeństwa do aktywności fizycznej.

W podrozdziale pt. „Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej”, Autor omawia wpływ różnych metod treningowych na parametry fizjologiczne organizmu. Pomimo braku jednomyślności co do skuteczności treningu w hipoksji, istnieją doniesienia potwierdzające jego korzystny wpływ na możliwości wysiłkowe oraz adaptacje metaboliczne i hematologiczne, także wśród osób rekreacyjnie uprawiających sport.

W podrozdziale pt. "Właściwości morfologiczne i hemoreologiczne krwi", Doktorant przedstawia wpływ treningu fizycznego na wskaźniki morfologiczne i reologiczne krwi. Wnioski wskazują na kompleksowy efekt treningu na właściwości krwi, z uwzględnieniem



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Nauk o Zdrowiu

zarówno adaptacji fizjologicznych, jak i potencjalnych zagrożeń związanych z zaburzeniami hemoreologicznymi.

W podrozdziale pt. "Stres oksydacyjny", doktorant analizuje mechanizmy powstawania reaktywnych form tlenu (RFT) i azotu (RFA) oraz ich wpływ na organizm, w tym na komórki erytrocytów. Omawia również rolę enzymów antyoksydacyjnych i przeciwutleniaczy w przeciwdziałaniu stresowi oksydacyjnemu oraz konsekwencje jego nadmiernego występowania, takie jak uszkodzenia białek i lipidów błon komórkowych. Doktorant również zwraca uwagę na wpływ wysiłku fizycznego na produkcję RFT i RFA oraz adaptację organizmu na stres oksydacyjny poprzez regularną aktywność fizyczną.

W podrozdziale pt. "Kwasy tłuszczowe lipidów błony erytrocytarnej", mgr Mardyła omawia strukturę i funkcje błon biologicznych, szczególnie w kontekście błony erytrocytarnej. Przedstawia skład lipidów tej błony, w tym fosfolipidy, cholesterol i glikolipidy, oraz ich znaczenie dla stabilności i funkcjonowania komórek. Omawia również rolę kwasów tłuszczowych w błonie erytrocytów, ich różnorodność oraz wpływ na funkcje komórkowe i zdrowie organizmu. Dodatkowo, przedstawia badania dotyczące wpływu diety i suplementacji na skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów oraz ich znaczenie dla zdrowia. Należy podkreślić, że opracowanie treści części teoretycznej jest syntetyczne i klarowne. Rozważania Autora są przemyślane i opierają się na właściwie dobranych materiałach źródłowych. Doktorant wykazał się umiejętnością posługiwania się cytowanym piśmiennictwem, uwzględniając wiodący udział obcojęzycznych pozycji związanych z tematem dysertacji.

Część badawcza rozprawy doktorskiej mgr. Mateusza Mardyły rozpoczyna się od sformułowania celu głównego badania, którym było ocena wpływu 4-tygodniowego treningu w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na spoczynkowe i powysiłkowe właściwości reologiczne krwi, poziom wskaźników stresu oksydacyjnego w erytrocytach oraz zawartość kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytów u mężczyzn.

Doktorant sformułował 5 pytań badawczych i odpowiadających im 5 hipotez badawczych.



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Nauk o Zdrowiu

Pytania badawcze:

1. Czy 4-tygodniowy trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej wpływa na wydolność fizyczną, charakteryzowaną wskaźnikiem VO_{2max} u osób nietreningujących wcześniej?
2. Czy 4-tygodniowy trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej wpływa na parametry morfologii krwi oraz profil lipidowy?
3. Czy 4-tygodniowy trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej wpływa na spoczynkowe i powysiłkowe właściwości reologiczne krwi?
4. Czy 4-tygodniowy trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej wpływa na zmianę poziomu wskaźników stresu oksydacyjnego oraz aktywności enzymów antyoksydacyjnych?
5. Czy 4-tygodniowy trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej wpływa na zmiany udziału kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytów?

Hipotezy badawcze:

1. Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej zwiększa maksymalny minutowy pobór tlenu (VO_{2max}) wśród osób nietreningujących wcześniej wyczynowo.
2. Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej poprawia parametry morfologiczne krwi oraz profil lipidowy krwi.
3. Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej powoduje wzrost odkształcalności erytrocytów oraz spadek ich agregacji.
4. Trening w warunkach hipoksji normobarycznej powoduje zmniejszenie poziomu wskaźników stresu oksydacyjnego oraz zwiększenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych.
5. Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej powoduje wzrost udziału nienasyconych i spadek udziału nasyconych kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytów.



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Nauk o Zdrowiu

W badaniu wzięło udział 38 zdrowych mężczyzn w wieku 18-28 lat (studenci AWF Kraków). Zostali oni losowo przydzieleni do czterech grup badawczych:

1. Grupa trenująca w warunkach hipoksji normobarycznej (TR-HYP, n=10): trening odbywał się w symulowanej wysokości -2800 m n.p.m.
2. Grupa trenująca w warunkach normoksji (TR-NOR, n=8): trening odbywał się w warunkach normoksji.
3. Grupa przebywająca w hipoksji (NTR-HYP, n=7): osoby z tej grupy nie trenowały, ale przebywały w warunkach hipoksji normobarycznej.
4. Grupa kontrolna (NTR-NOR, n=10): osoby z tej grupy nie trenowały i nie były poddawane hipoksji.

Przed rozpoczęciem badania wszyscy uczestnicy poddali się testowi EKG wysiłkowego na bieżni, a ich wyniki ocenił lekarz kardiolog. Ostatecznie badania ukończyło 35 osób.

Przed rozpoczęciem badań studenci wypełnili Międzynarodowy Kwestionariusz Aktywności Fizycznej (ang. *International Physical Activity Questionnaire*, IPAQ), aby ocenić poziom swojej aktywności. W celu oceny zmian wskaźników fizjologicznych wszyscy uczestnicy na początku i pod koniec badania wykonali na cykloergometrze wysiłkowy test stopniowany do odmowy.

Grupy trenujące odbywały 60-minutowe treningi z indywidualnie dobranym obciążeniem:

TR-HYP: w warunkach hipoksji

TR-NOR: w warunkach normoksji

NTR-HYP: 3 razy w tygodniu przez 60 minut w komorze hipoksyjnej

Grupa kontrolna (NTR-NOR) nie uczestniczyła w żadnej interwencji treningowej.

Pobrania krwi wykonano czterokrotnie: dwukrotnie na początku i pod koniec okresu badawczego. Analiza obejmowała:

- Wskaźniki morfologiczne, biochemiczne i reologiczne krwi
- Poziom wskaźników stresu oksydacyjnego i enzymów antyoksydacyjnych

Instytut Fizjoterapii | Zakład Biomechaniki i Kinezylogii

31-066 Kraków, ul. Skawińska 8, tel. +48 12 421 93 51

www.if.wnz.cm.uj.edu.pl



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Nauk o Zdrowiu

- Skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów

Pomiary morfologii krwi obwodowej, profilu lipidowego, składu kwasów tłuszczowych błon erytrocytów oraz stężenia fibrynogenu wykonywano tylko w warunkach spoczynkowych (punkty czasowe T1 i T3).

Pomiary właściwości reologicznych krwi, wskaźników stresu oksydacyjnego w erytrocytach oraz stężenia mleczanu odbywały się zarówno w spoczynku, jak i po wysiłku (punkty czasowe T1, T2, T3 i T4).

Protokół badań obejmował również pomiary somatyczne i testy wysiłkowe. Krew do badań biochemicznych pobierano 4-krotnie: przed i 3 minuty po teście wysiłkowym, przed i po okresie badawczym.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programów Microsoft Office Excel 2016 oraz Statistica 14.1. Dane zostały przedstawione za pomocą średnich oraz odchyłeń standardowych (SD). Normalność rozkładów zmiennych badano testem Shapiro-Wilka. Wieloczynnikową analizę wariancji z powtarzanymi pomiarami wykorzystano do porównania efektów warunków (hipoksja vs. normoksja), treningu (trenujący vs. nietrenujący) oraz czasu (przed vs. po). W przypadku istotnego wpływu czynników głównych przeprowadzono test post-hoc NIR Fishera. Poziom istotności przyjęto na poziomie $p < 0,05$.

Podsumowując, stwierdzam, że zastosowana metodyka badań spełnia kryteria poprawności warsztatu naukowego.

Wyniki badań zaprezentowano w 13 podrozdziałach rozdziału 4. Podrozdziały 4.1–4.3 omawiają analizę poziomu aktywności fizycznej, zmianę masy i składu ciała oraz wskaźników fizjologicznych wydolności tlenowej i parametrów krążeniowo-oddechowych. W kolejnych podrozdziałach Doktorant szczegółowo analizuje różnorodne aspekty badań, od zmian wskaźników morfologicznych krwi obwodowej po zmiany spoczynkowych właściwości hemoreologicznych krwi.

Doktorant dokładnie opisuje efekty treningu w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej, wykazując jego korzystny wpływ na morfologię krwi obwodowej i profil lipidowy krwi. Nie stwierdzono istotnych zmian w wskaźnikach wydolności tlenowej



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Nauk o Zdrowiu

w wyniku żadnej interwencji, jednak zauważono istotny wzrost liczby retikulocytów w grupie trenującej w hipoksji. Dodatkowo obserwowano poprawę profilu lipidowego krwi oraz tendencję wzrostową indeksu elongacji najstarszej frakcji krwinek w grupach trenujących.

W rozdziale "Dyskusja" autor w sposób logiczny i kompetentny omawia główne zagadnienia wyników badań. W pierwszej kolejności analizuje wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na różne wskaźniki fizjologiczne i morfologiczne, popierając swoje wnioski aktualnymi danymi literaturowymi. Kolejne podrozdziały poświęcone są szczegółowej dyskusji na temat stresu oksydacyjnego, składu kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytów oraz innych istotnych aspektów. Interpretacja wyników badań została przeprowadzona gruntownie, z uwzględnieniem złożoności obserwowanych zjawisk. Autor krytycznie ocenia uzyskane wyniki, starając się zrozumieć ich implikacje w kontekście dostępnej literatury naukowej. Szczególnie podkreśla wpływ treningu w warunkach przerywanej hipoksji na różne parametry fizjologiczne i morfologiczne. Analizując niejednoznaczność wyników opisanych w literaturze, autor próbuje wyjaśnić zmiany zachodzące w badanych parametrach. Szczególną uwagę zwraca na wpływ treningu i ekspozycji na hipoksję na różne wskaźniki fizjologiczne i morfologiczne.

Na zakończenie dyskusji autor podaje ograniczenia badań, wskazując na potencjalne niedociągnięcia. Ponadto, wskazuje na potrzebę dalszych badań w celu lepszego zrozumienia kompleksowych mechanizmów wpływających na badane parametry.

W podsumowaniu analizy uzyskanych wyników badań własnych autor sformułował 6 wniosków szczegółowych wynikających z badań.

1. Trening IHT powoduje wzrost ilości retikulocytów w krwi obwodowej.
2. Trening IHT wywołuje korzystne zmiany w profilu lipidowym krwi poprzez obniżenie frakcji lipoprotein o małej gęstości (LDL).
3. Trening przerywanej hipoksji nie zmienia spoczynkowych wskaźników agregacji krwinek czerwonych.



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Nauk o Zdrowiu

4. Zarówno trening w normoksji jak i IHT prowadzą w kierunku wzrostu odkształcalności najstarszych erytrocytów (III frakcji krwinek).
5. Trening IHT zmniejsza powysiłkowe wskaźniki agregacji erytrocytów związane z wykonaniem wysiłku wstępnego.
6. Trening IHT nie wywołuje zmian w poziomie wskaźników stresu oksydacyjnego.

Wnioski z badań dotyczących wpływu 4-tygodniowego treningu w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na wybrane parametry fizjologiczne krwi opierają się na rzetelnie przeprowadzonych badaniach. Badania te zostały zrealizowane zgodnie z zasadami etyki badań naukowych oraz z uwzględnieniem obowiązujących standardów metodologicznych.

Piśmiennictwo zostało prawidłowo dobrane i wykorzystane.

Treść dysertacji kończy starannie zredagowane „Streszczenie”, przedstawione w polsko - i anglojęzycznej wersji.

Przedstawiona praca doktorska niewątpliwie wnosi oryginalną wartość do istniejącego stanu wiedzy w zakresie wpływu treningu w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na funkcjonowanie organizmu. Zawarte w rozprawie wyniki badań i sformułowane wnioski są interesujące i mogą stanowić cenny wkład w dalsze badania nad wpływem aktywności fizycznej na zdrowie człowieka.

Podczas lektury dysertacji zwróciłem uwagę na kilka kwestii, które wymieniam z obowiązku recenzenta, a które powinny być wzięte pod uwagę przy przygotowywaniu pracy do druku:

1. Warto by Autor dokładniej opisał procedury rekrutacji uczestników, kryteria włączenia i wykluczenia oraz metody losowania do grup badanych. W pracy doktorskiej nie ma też informacji o przeprowadzeniu analizy statystycznej mającej na celu ustalenie odpowiedniej liczby uczestników.
2. Podpisy niektórych tabeli są zbyt lakoniczne. Tabela powinna być samowystarczalna - celem opisu tabeli jest zapewnienie czytelnikowi pełnego zrozumienia prezentowanych danych bez konieczności odwoływania się do tekstu głównego. Przykładowo, brakuje informacji o liczebności grup



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Nauk o Zdrowiu

badawczych czy metodzie statystycznej użytej do analizy danych. Brak jest również opisu niektórych skrótów użytych w tabeli (np. nazwy grup).

3. Wnioski nie do końca korespondują z pytaniami badawczymi.
4. Zamiast „Limitacje badań” lepiej poprawniej byłoby napisać „ograniczenia”.
5. Warto ponumerować załączniki w Aneksie.
6. Nie jest jasne dlaczego w spisie rycin znalazły się trzy nie ponumerowane raporty danych pomiaru elongacji z Aneksu.

Powyższe moje sugestie i uwagi mają jedynie charakter porządkowy, nie podważają merytorycznych założeń rozprawy doktorskiej.

Całość rozprawy doktorskiej Pana mgr. Mateusza Mardyły pt. „Wpływ treningu fizycznego w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na wybrane wskaźniki reologiczne i biochemiczne krwi, stres oksydacyjny oraz skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów u nietreningujących mężczyzn” jest przez mnie bardzo pozytywnie oceniana. Doktorant z całą pewnością dowiódł, że jest badaczem potrafiącym dobrać ciekawy, aktualny temat badawczy. Ponadto, Autor rozprawy wykazał się odpowiednim przygotowaniem merytorycznym i metodologicznym. Zebrany materiał został w rzetelny sposób przeanalizowany i stał się podstawą do wyciągnięcia prawidłowych, logicznych wniosków.

Podsumowując, rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a całość opracowania dowodzi, że Doktorant ma dużą wiedzę teoretyczną i umiejętność planowania i realizacji projektu badawczego. Na tej podstawie stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (z dnia 14. marca 2003 ze zmianami wniesionymi nowelizacją z dnia 18. marca 2011) zwana dalej Ustawą (Dz.U. 2003 nr 65 poz.595 z późniejszymi zmianami) oraz Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dn. 26. września 2016 w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim.

Wobec powyższego wnoszę do Rady Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego w Krakowie o dopuszczenie Pana mgr. Mateusza Mardyły do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Instytut Fizjoterapii | Zakład Biomechaniki i Kinezyjologii

31-066 Kraków, ul. Skawińska 8, tel. +48 12 421 93 51

www.ifwvz.cm.uj.edu.pl