

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"

Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że u osób nieuprawiających sportu wyczynowego wpływ przerywanego treningu w hipoksji na właściwości hemoreologiczne krwi jest wciąż mało poznany. Mając na uwadze cele poznawcze i możliwość zastosowania treningów w przerywanej hipoksji u zdrowych młodych mężczyzn nietreningujących żadnego sportu w sposób wyczynowy, praca doktorska mgr. Mateusza Mardyły jest ciekawą próbą szerszego poznania zmian wskaźników hemoreologicznych oraz wskaźników zaburzeń równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej i składu kwasów tłuszczowych błon erytrocytów pod wpływem wysiłku w umiarkowanej hipoksji. Promotorem rozprawy jest dr hab. Aneta Teległów prof. AWF; promotorem pomocniczym: dr n. med. Jakub Marchewka.

Przedstawiona do oceny rozprawa liczy 140 stron wydruku komputerowego (w tym: streszczenia w j. polskim i w j. angielskim – 5 stron; spis tabel i rycin – 2 str.; wykaz skrótów – 2 str.; aneks – 8 str.). Praca zawiera 14 tabel, 6 rycin oraz 290 pozycji starannie dobranej literatury (w języku angielskim jest 98,6% pozycji (tylko 1,38% w j. polskim). Od roku 2019 zamieszczono 13,4% pozycji literatury. Tekst główny (bez streszczeń) został podzielony na siedem rozdziałów (w tym bibliografia bez numeracji), typowych dla prac promocyjnych.

W części wprowadzającej rozprawy (Wstęp; rozdz. nr 1) mgr Mateusz Mardyła w oparciu o bogatą literaturę przedmiotu badań, w sposób kompetentny przedstawia w pięciu starannie opracowanych podrozdziałach podjęte zagadnienia badawcze. Obejmują one: 1.1. Rola aktywności fizycznej i treningu w zachowaniu zdrowia; 1.2. Trening w warunkach przerywanej hipoksji; 1.3. Właściwości morfologiczne i hemoreologiczne krwi; 1.4. Stres oksydacyjny; 1.5. Kwasy tłuszczowe lipidów błony erythrocytarnej.

Uwzględniając istotne dane z literatury, dotyczące zagadnień treningu fizycznego w przerywanej hipoksji normobarycznej i jego wpływu na wskaźniki fizjologiczne krwi (właściwości reologiczne, wskaźniki stresu oksydacyjnego w erythrocytach, zawartość kwasów

tłuszczowych w błonach erytrocytów), mgr Mateusz Mardyla sformułował poprawnie cel badań. Dotyczył on oceny zmian spoczynkowych oraz powysiłkowych we właściwościach wcześniej wymienionych wskaźników fizjologicznych krwi u mężczyzn poddanych czterotygodniowemu treningowi w warunkach przerywanej hipoksji na tle innych grup badanych. Doktorant dla rozwiązania celu poznawczego opracował pięć pytań badawczych, które w istotny sposób określają kierunek prowadzonych badań. Mgr M. Mardyla uzupełnił założenia poznawcze poprawnie sformułowanymi hipotezami badawczymi (pięć hipotez).

Materiał i metody. Dopuszczeni do badań młodzi mężczyźni (ochotnicy) w wieku 18-28 lat (studenci AWF Kraków) wykonywali test wysiłkowy EKG na bieżni ruchomej, z oceną dokonaną przez lekarza kardiologa. Do badań zaplanowanych w doktoracie zakwalifikowano 35 mężczyzn. W drodze losowania wyłoniono 4 grupy badanych: 1) grupa trenująca (n=10) w hipoksji normobarycznej ($F_i O_2$: 14,5 %), symulowana wysokość: ~2800 m n.p.m.); 2) grupa trenująca w normoksji (n=8); 3) grupa przebywająca w hipoksji (n=7); 4) grupa nietrenująca nie poddawana hipoksji (n=10). Przed przystąpieniem do badań ochotnicy-studenci wypełnili ankietę Międzynarodowy Kwestionariusz Aktywności Fizycznej (IPAQ) w celu oceny poziomu aktywności fizycznej. Na początku okresu badawczego i pod jego koniec badani ze wszystkich grup wykonali na cykloergometrze wysiłkowy test stopniowany do odmowy w celu oceny zmian wskaźników fizjologicznych. Głównym celem testu było określenie: wielkości maksymalnego minutowego poboru tlenu (VO_{2max}); drugiego progu wentylacyjnego (VT_2) oraz maksymalnej częstości skurczów serca (HR_{max}). W spoczynku oraz podczas trwania wysiłku, przy pomocy analizatora gazowego (MetaLyzer 3B, Cortex, Niemcy), metodą z oddechu na oddech (breath-by-breath), dokonano rejestracji następujących wskaźników wymiany oddechowej: minutowy pobór tlenu (VO_2), minutową produkcję dwutlenku węgla (VCO_2), procentową zawartość tlenu w powietrzu wydychanym (tO_2), procentową zawartość dwutlenku węgla w powietrzu wydychanym (tCO_2), wentylację minutową płuc (VE), iloraz oddechowy (RER), równoważnik oddechowy dla tlenu ($VE \cdot VO_2^{-1}$), równoważnik oddechowy dla dwutlenku węgla ($VE \cdot CO_2^{-1}$). Grupy trenujące wykonywały 60 minutowy trening z indywidualnie dobranym obciążeniem 3 razy w tygodniu w warunkach hipoksji (TR-HYP) lub normoksji (TR-NOR), natomiast grupa przebywająca w hipoksji wykonywała 3 razy w tygodniu wejście do komory hipoksyjnej również na okres 60 minut (NTR-HYP). Grupa nietrenująca-kontrolna nie miała przeprowadzonej żadnej interwencji (NTR-NOR). Pobrania krwi zostały wykonane czterokrotnie: dwukrotnie na początku okresu badawczego i dwukrotnie pod koniec. Analiza obejmowała wskaźniki morfologiczne, biochemiczne i reologiczne krwi, poziom wskaźników stresu oksydacyjnego i enzymów antyoksydacyjnych a także skład kwasów tłuszczowych błon

erytrocytów. Pomiary morfologii krwi obwodowej, profilu lipidowego krwi, składu kwasów tłuszczowych błon erytrocytów oraz stężenia fibrynogenu były dokonane jedynie w warunkach spoczynkowych (punkty czasowe T1 oraz T3), natomiast pomiary właściwości reologicznych krwi, wskaźników stresu oksydacyjnego w erytrocytach oraz stężenia mleczanu odbyły się zarówno w warunkach spoczynkowych jak i po wysiłkowych (punkty czasowe T1, T2, T3 oraz T4). Pomiary wskaźników budowy i masy ciała badanych zostały dokonane przy użyciu 8-elektrodowego wieloczęstotliwościowego analizatora Jawon Medical (model IOI 353, Korea) metodą bioelektrycznej impedancji. W analizie statystycznej wykorzystano arkusz programu Microsoft Office (Excel 2016) oraz program Statistica 14.1. Wyniki badań przedstawiono w postaci średnich (\bar{x}) oraz odchyłeń standardowych (SD). Analizę normalności rozkładów badanych zmiennych określono testem Shapiro Wilka. Dla porównania efektów warunków (hipoksja lub normoksja) oraz treningu (trenujący lub nietrenujący) a także efektu czasu (pomiędzy pomiarami Pre oraz Post) wykorzystano wieloczynnikową analizę wariancji z powtarzaniem pomiarów. Przy stwierdzeniu istotnego wpływu czynników głównych przeprowadzono test post-hoc NIR Fishera. Za poziom istotności przyjęto wartość $p < 0,05$. Zastosowane w pracy materiały i metody badań zostały poprawnie dobrane i wykorzystane, adekwatnie do założonego celu poznawczego oraz pytań i hipotez badawczych. Zgodę na badania wydała Komisja Bioetyczna przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Krakowie (nr1/KBL/OIL/2023 z dnia 27 stycznia 2023 r.).

Wyniki badań (rozdz.4.0) przedstawiono w czytelny sposób w 13 podrozdziałach, dokonując w logicznej kolejności przeprowadzonych testów ich interpretacji: 4.1. Analiza poziomu aktywności fizycznej; 4.2. Zmiany masy i składu ciała; 4.3 Zmiany wskaźników fizjologicznych wydolności tlenowej i parametrów krążeniowo-oddechowych; 4.4. Zmiany wskaźników morfologicznych krwi obwodowej; 4.5. Zmiany profilu lipidowego krwi; 4.6. Zmiany składu kwasów tłuszczowych błony erytrocytarnej; 4.7. Zmiany spoczynkowych właściwości hemoreologicznych krwi; 4.8. Zmiany spoczynkowych wskaźników stresu oksydacyjnego i enzymów antyoksydacyjnych; 4.9. Zmiany wysiłkowych różnic wskaźników hemoreologicznych krwi; 4.10. Zmiany wysiłkowych różnic wskaźników stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych; 4.11. Zmiana stężenia fibrynogenu; 4.12. Zmiany różnic wysiłkowych stężenia mleczanu; 4.13. Zmiany wskaźników fizjologicznych podczas pierwszego i dwunastego treningu. Z uwagi na znaczenie pomiarów wskaźników wydolności tlenowej w ocenie stanu wytrenowania Doktorant wykazał, że cyt. „obserwowany poziom średniej wartości maksymalnego minutowego poboru tlenu wyrażonego w ml/kg/min (VO_{2max}) zmieniał się wraz z powtórzeniem testu ($F=6,69$; $p=0,01$),

we wszystkich grupach zaobserwowano jego wzrost. Ponadto zaobserwowano efekt interakcji: warunków i treningu ($F=4,14$; $p=0,05$), nie zaobserwowano jednak dla niego istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami. Powtórzenie testu spowodowało zwiększenie ($F=6,69$; $p=0,007$) średniej wartości maksymalnego minutowego poboru tlenu wyrażonego w l/min (VO_{2max}) we wszystkich grupach (w teście post-hoc $p=0,004$). Jego wartość rosła w sposób zależny od treningu (bardziej w grupach trenujących) ($F=4,44$; $p=0,04$). W teście post-hoc wykazano istotną zmianę pomiędzy grupami trenującymi a nietrenującymi ($p=0,03$). Zaobserwowano również interakcję warunków i treningu ($F=4,89$; $p=0,03$). Na uwagę zasługują również wyniki dotyczące wskaźników stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych (podrozdz. 4.10 i tab.11). Zmiany wysiłkowych różnic w/w wskaźników stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych w erytrocytach [$\Delta T2-T1$ (Pre) i $\Delta T4-T3$ (Post)] w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) przedstawiono w tabeli 11. Nie wykazano statystycznie istotnego wpływu czasu, treningu oraz warunków ani interakcji pomiędzy nimi dla różnic wysiłkowych wskutek testu pułapowego we wskaźnikach stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych w pomiarach Pre oraz Post. Doktorant powyższe zależności omówił szczegółowo w dyskusji w podrozdz. 5.3. W sposób kompetentny interpretuje najważniejsze zmienne i z dużym znawstwem tematyki badań wysiłkowych w przerywanym niedotlenieniu normobarycznym odnosi się do zmian poszczególnych parametrów fizjologicznych, morfologicznych oraz hemoreologicznych krwi. W rozdziale „Dyskusja (rozdz.5)”. Doktorant w poprawnej kolejności omawia wiodące zagadnienia wyników badań: 5.1. Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki fizjologiczne; 5.2. Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki morfologiczne, reologiczne oraz biochemiczne; 5.3. Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych w erytrocytach; 5.4. Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów; 5.5. Wpływ treningu w różnych warunkach na wskaźniki fizjologiczne. Doktorant w sposób kompetentny i wysoce profesjonalny odnosi się do badań innych autorów, a cytowane dane literaturowe są aktualne i właściwie przytaczane. Mgr M. Mardyła na zakończenie dyskusji podaje ograniczenia badań własnych, do których zalicza zbyt krótki (3 min) czas poboru krwi po wysiłku celem oznaczenia wskaźników statusu antyoksydacyjnego (SOD, CAT, GPx). W świetle doniesień naukowych powyższe wskaźniki mogą wykazywać pierwsze zmiany około 20 minut po wysiłku. Stąd w badaniach własnych prawdopodobnie nie uzyskano faktycznych wartości wskaźników antyoksydacyjnych mierzonych w erytrocytach. Zdaniem recenzenta do ograniczeń

w badaniach własnych można również zaliczyć zbyt małą liczebność badanych mężczyzn w poszczególnych grupach eksperymentalnych.

Wnioski. Doktorant sformułował sześć wniosków, z których pierwsze dwa są odpowiedzią na pytanie badawcze nr 2 i hipotezę nr 2; wnioski nr 3-5 odpowiadają na pytanie nr 3 i hipotezę nr 3. Wniosek nr 6 jest odpowiedzią na pytanie badawcze nr 5 i hipotezę nr 5. Pytanie badawcze nr 1 (i hipoteza nr 1) dotyczące wydolności fizycznej VO₂max oraz pytanie nr 4 (oraz hipoteza nr 4) dotyczące wskaźników stresu oksydacyjnego oraz zwiększenia aktywności enzymów antyoksydacyjnych nie znalazły odzwierciedlenia we wnioskach. Powyższa gradacja wniosków jak sądzę wynika z arbitralnego osądu Doktoranta co do ważności poszczególnych zagadnień, bowiem pominięte treści zostały szczegółowo przedstawione w wynikach badań oraz dyskusji.

Uwagi recenzenta:

- struktura rozprawy: Spis treści - tytuły podrozdziałów: 4.6; 4.8 - 4.12 nie odpowiadają w pełni tytułom podrozdziałów zamieszczonych w treści rozprawy. Spis treści - w rozdziale 5. Dyskusja tytuły podrozdziałów nr 5.4 i 5.5 są podane mylnie jako 5.3 i 5.3. Z kolei tytuł podrozdziału 5.1. Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki poziomu aktywności fizycznej jest zmieniony na: 5.1. Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki fizjologiczne;
- pytania badawcze nr 1 i nr 4 oraz hipotezy badawcze nr 1 i nr 4 nie zostały uwzględnione we wnioskach. Natomiast ujęte w nich zagadnienia dotyczące wydolności fizycznej (VO₂max) oraz stresu oksydacyjnego zostały szczegółowo przedstawione w wynikach badań i dyskusji.

Mając na uwadze ewentualne wnioski praktyczne wynikające z badań mam następujące pytanie: Na ile przedstawiona i zrealizowana metodyka badań w przerywanym niedotlenieniu normobarycznym może być zastosowana u nietreningujących młodych mężczyzn chcących uprawiać wspinaczkę wysokogórską nieprzekraczającą wysokości 3000m n.p.m.?

Przedstawione uwagi recenzenta mają charakter redakcyjny, nie zawsze polemiczny, bardziej porządkowy i nie mają wpływu na pozytywną ocenę merytoryczną niniejszej rozprawy.

Uwzględniając całość zaplanowanych i wykonanych badań przez mgr. Mateusza Mardylę oraz poprawną analizę i interpretację wyników badań, 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.

Uwzględniając powyższe dokonania Doktoranta i przedstawione opinie, stawiam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego im. Bronisława Czecha w Krakowie o dopuszczenie mgr. Mateusza Mardyły do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 24 lutego 2024 r.



prof. dr hab. med. Krzysztof Klukowski