

Recenzja pracy doktorskiej mgra 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”

Niniejsza recenzja została sporządzona w związku z Uchwałą Rady Naukowej AWF w Krakowie z dnia 18 stycznia 2024 roku o powierzeniu mi funkcji recenzenta w przewodzie doktorskim mgra Mateusza Mardyły.

Uwagi ogólne

W celu zapewnienia optymalnego zdrowia i minimalizowania ryzyka wystąpienia chorób określanych mianem cywilizacyjne, naukowcy rekomendują podejmowanie różnych form aktywności fizycznej oraz nowych metod treningowych. Jedną z takich metod, która jest coraz częściej stosowana w praktyce i ciągle dyskutowana w piśmiennictwie naukowym ze względu na brak jednoznacznych wyników badań, jest trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej. Dlatego też z pełnym przekonaniem stwierdzam, że podjęcie przez mgra Mateusza Mardyły badań nad wpływem tego rodzaju treningu na właściwości reologiczne krwi, wybrane czerwono-krwinkowe wskaźniki antyoksydacyjne i produkty stresu oksydacyjnego oraz zawartość kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytarnych jest zasadne, a uzyskane przez Autora wyniki mają istotną wartość poznawczą.

Struktura pracy i ocena treści

Manuskrypt, który otrzymałam do oceny to liczące 140 strony opracowanie o układzie typowym dla prac doświadczalnych. Uzyskane wyniki przedstawiono w formie 14 tabel, z których pierwsza została zamieszczona w części metodologicznej pracy i przedstawia średnie wartości wybranych wskaźników antropometrycznych i fizjologicznych w badanych grupach

mężczyzn, oraz 4 rycin. Podobnie jak w przypadku tabel, 2 ryciny znajdują się w metodologicznej części pracy i prezentują odpowiednio schemat procedury badawczej oraz zdjęcie próbki z frakcjami erytrocytów w gradiencie gęstości. Na początku pracy Autor umieścił wykaz skrótów i symboli, podczas gdy na końcu pracy zamieścił piśmiennictwo obejmujące 290 pozycji, 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.

Starannie przygotowana część wprowadzająca pracy („*Wstęp*”) została podzielona na 5 podrozdziałów podporządkowanych celowi badań. W pierwszym z nich Autor przedstawił aktualny stan wiedzy na temat roli aktywności fizycznej i treningu w utrzymaniu dobrego stanu zdrowia. W tym celu powołał się na dane Światowej Organizacji Zdrowia oraz Centrum Badania Opinii Społecznej dotyczące odsetka osób dorosłych mających problem z nadwagą i otyłością oraz roli regularnie podejmowanej aktywności fizycznej w zmniejszeniu ryzyka wystąpienia chorób cywilizacyjnych. W podrozdziale drugim dokładnie wyjaśnił na czym polega hipoksja, jakie są jej rodzaje i jak wpływa na żywy organizm. Następnie odniósł się do metod treningu wykonywanego w warunkach hipoksji normobarycznej i hipobarycznej, podkreślając przy tym liczne zalety pierwszej metody treningu. Zgodnie z tym co napisał Autor, polegają one nie tylko na minimalizowaniu wystąpienia niekorzystnych efektów spowodowanych ekspozycją na promieniowanie UV oraz obniżeniu kosztów związanych z podróżami, ale przede wszystkim trening w warunkach hipoksji normobarycznej wywołuje szereg korzystnych zmian w zakresie wskaźników biochemicznych i fizjologicznych. Z dużym zainteresowaniem zapoznałam się z podrozdziałem trzecim, w którym Doktorant bardzo szczegółowo przedstawił właściwości morfologiczne i hemoreologiczne krwi, a następnie opisał, powołując się na liczne piśmiennictwo naukowe, zmiany w zakresie wymienionych właściwości, wywołane pod wpływem jednorazowego wysiłku fizycznego oraz treningu. W kolejnym, czwartym podrozdziale opisał zjawisko stresu oksydacyjnego i mechanizmy obronne występujące w krwinkach czerwonych, zaangażowane w usuwanie reaktywnych form tlenu. W ostatnim, piątym podrozdziale opisał funkcje poszczególnych lipidów występujących w błonach erytrocytarnych, podkreślając przy tym wrażliwość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na działanie reaktywnych form tlenu.

Następnie Doktorant sformułował główny cel pracy, którym było określenie „*zmian spoczynkowych oraz powysiłkowych we właściwościach reologicznych krwi, poziomie wskaźników stresu oksydacyjnego w erytrocytach oraz w zawartości kwasów tłuszczowych błon*

erytrocytów u mężczyzn poddanych 4 tygodniowemu treningowi w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na tle innych grup badanych". Rozwiązując cel poznawczy sprecyzował 5 szczegółowych pytań badawczych oraz 5 hipotez badawczych. Postawione pytania wynikały z przeprowadzonej analizy piśmiennictwa w części wprowadzającej pracy.

Zgodnie z zamieszczoną informacją w rozdziale „*Materiał i metoda badań*” do badań zakwalifikowano 38 uczestników, którzy zostali losowo przydzieleni do 4 niezależnych grup badawczych tj. grupy trenującej w warunkach hipoksji normobarycznej (TR-HYP, n=10); grupy trenującej w warunkach normoksji (TR-NOR, n=8); grupy nietrenującej, przebywającej w warunkach hipoksji normobarycznej (NTR-HYP, n=7) oraz nietrenującej grupy kontrolnej (NTR-NOR, n=10). Ostatecznie badania ukończyło 35 osób. Biorąc pod uwagę fakt, że wielkość grupy badawczej ma kluczowe znaczenie dla wiarygodności i reprezentatywności wyników badań, nasuwa się pytanie, czy Doktorant przed rozpoczęciem badań oszacował wielkości badanych grup? Proszę również o szczegółowe przedstawienie kryteriów włączenia uczestników do badań.

Następnie opisał protokół badań, z którego wynika, że przed rozpoczęciem badań wykonano pomiary somatyczne i testy wysiłkowe. Ponadto badani wypełnili kwestionariusz aktywności fizycznej w celu oceny poziomu aktywności fizycznej. Krew do badań biochemicznych była pobierana 4-krotnie tj. przed wykonaniem testu wysiłkowego i 3 min. po jego zakończeniu przed okresem badawczym i po jego zakończeniu. Okres badawczy obejmował 60-minutowy trening rowerowy 3 razy w tygodniu w warunkach hipoksji lub normoksji oraz ekspozycję na hipoksję (3 razy w tygodniu po 60 min.). Z drobnych uwag do tej części pracy wnoszę brak wzmianki o okresie trwania całej procedury badawczej i wyjaśnienia, gdzie dokładnie były symulowane warunki hipoksji. Nie jest również jasne stwierdzone, kiedy dokładnie badani oceniali stopień zmęczenia.

Na uwagę zasługuje część rozdziału poświęcona badaniom reologicznym i biochemicznym krwi. Autor bardzo skrupulatnie opisał metodę odkształcania i agregacji erytrocytów, jak również ocenę stężenia fibrynogenu oraz składu kwasów tłuszczowych obecnych w błonach krwinek czerwonych. Pozostałe wskaźniki biochemiczne, za wyjątkiem morfologii krwi obwodowej i lipidogramu, były oznaczone przy użyciu odpowiednich zestawów diagnostycznych. Uważam, że uzupełnieniem metodologii dla poszczególnych zestawów byłoby uwzględnienie czułości metod analitycznych, współczynników wewnątrz- i zewnątrzoznaczeniowych oraz wartości referencyjnych dla oznaczanych wskaźników. Metody wybrane do opracowania statystycznego wyników badań nie budzą zastrzeżeń.

W kolejnym podrozdziale „*Wyniki*” Doktorant rzetelnie opisał w tekście wyniki badań, które również zilustrował w postaci tabel i rycin. Do oryginalnych i ważnych osiągnięć mgra Mateusza Mardyły należą:

- zbadanie wpływu treningu w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na morfologię krwi obwodowej i lipidogramu, oraz wykazanie że, zastosowany trening korzystnie wpływa na liczbę młodych form krwinek czerwonych oraz cholesterol frakcji LDL,
- wykazanie braku istotnego wpływu treningu w warunkach przerywanej hipoksji na VO_{2max} , spoczynkowe wskaźniki agregacji krwinek czerwonych, wskaźniki równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej oraz skład kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytarnych,
- stwierdzenie wpływu treningu IHT na obniżenie powysiłkowych wskaźników agregacji krwinek czerwonych oraz wzrost odkształcalności erytrocytów III frakcji.

Ze względu na szeroki wachlarz wskaźników analizowanych w pracy, rozdział „*Wyniki*” stanowi obszerną część dysertacji, w której znajdują się pewne drobne nieścisłości:

- zamienne używanie określenia „*frakcja lipoprotein o małej gęstości*” lub „*frakcja lipoprotein o dużej gęstości*” odpowiednio dla cholesterolu frakcji LDL i HDL. Pragnę przypomnieć, że cholesterol jest lipidem z grupy steroidów, a jego transport wraz z innymi składnikami lipidowymi odbywa się we krwi w kompleksach zwanych lipoproteinami o bardzo małej gęstości (VLDL), małej (LDL) lub dużej gęstości (HDL);
- podanie niewłaściwej jednostki dla hematokrytu (Tab. nr 5);
- w tytule Tabeli nr 9 Autor pisze: „*Analiza spoczynkowych zmian wskaźników statusu prooksydacyjno-antyoksydacyjnego i wskaźników stresu oksydacyjnego...*” W przyszłości sugeruję używać określenia „*wybrane wskaźniki równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej*”, ponieważ obejmują one zarówno antyoksydanty enzymatyczne, nieenzymatyczne oraz markery charakteryzujące stres oksydacyjny,
- tytuł Tabeli nr 11 nie odpowiada wykazanym w tejże tabeli wskaźnikom.

Dyskusja wyników została opracowana logicznie i kompetentnie. Doktorant przedyskutował wyniki swoich badań, odnosząc je do danych prezentowanych w dostępnej literaturze naukowej, konsekwentnie do postawionych pytań badawczych. Szczegółowy komentarz dotyczył wpływu zastosowanego w badaniach treningu w warunkach przerywanej hipoksji na wskaźniki fizjologiczne. Doktorant zwrócił uwagę na niejednoznaczność wyników opisanych w literaturze, w tym zakresie. Następnie szczegółowo skomentował wpływ zastosowanego treningu oraz ekspozycji na hipoksję na wskaźniki morfologiczne, reologiczne i profilu lipidowego, podejmując się przy tym próbę wyjaśnienia zmian zachodzących

we właściwościach morfologicznych i reologicznych krwi u badanych mężczyzn. Kolejnym przedmiotem analizy było wykazanie wpływu hipoksji oraz treningu na wskaźniki równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej krwi, skład kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytarnych oraz stopień odczuwanego zmęczenia. „Dyskusję” kończy akapit zawierający informację o ograniczeniu badań. W opinii Autora pobór krwi w 3 minucie po zakończeniu testu wysiłkowego „może nie oddawać faktycznych wartości wskaźników antyoksydacyjnych mierzonych w erytrocytach”. Do wskazanego stwierdzenia nasuwa się pytanie, w jakim czasie, po zakończeniu testu wysiłkowego powinny być ocenione aktywności antyoksydacyjnych enzymów erytrocytarnych?

Dyskusję kończy 6 wniosków, które powinny być odpowiedzią na postawione pytania badawcze. Zasadniczo tak jest, chociaż brakuje odpowiedzi na pierwsze i czwarte pytanie pomimo, że Autor sformułował do tych pytań hipotezy badawcze.

Z drobnych uwag redakcyjnych dotyczących tego i poprzedniego rozdziału wymienię używanie określeń „ilość erytrocytów” lub „ilość retikulocytów” zamiast liczba erytrocytów lub retikulocytów. Pragnę zwrócić uwagę, że wskazane wskaźniki zaliczane są do rzeczowników policzalnych, które można wyszczególnić jako jednostki i policzyć.

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pana mgra 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*” przygotowana pod opieką naukową Pani prof. AWF, dr hab. Anety Teległów oraz dra n.med. Jakuba Marchewki jest wartościowym osiągnięciem naukowym. Doktorant wykazał się dobrą znajomością teoretycznych podstaw badanych zagadnień oraz umiejętnością rozwiązywania problemów badawczych.

Z uwagi na powyższe, zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego im. Bronisława Czecha w Krakowie o dopuszczenie Pana mgra Mateusza Mardyły do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Awe Sadowska-Kuspa