

Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych,
Angiologii i Medycyny Fizykalnej
Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze ul.
Batorego 15
41-902 Bytom

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Gdańskiej
pt. „WPŁYW ODDZIAŁYWAŃ TERMICZNYCH
NA STATUS ANTYOKSYDACYJNY KRWI ORAZ STĘŻENIE
NEUROTROFICZNEGO CZYNNIKA POCHODZENIA MÓZGOWEGO
(BDNF) W SUROWICY KRWI
U BIEGACZY NARCIARSKICH”**

Promotor: dr hab. Ewa sadowska-Krępa, prof. AWF

Podstawę opracowania recenzji przez mnie stanowi otrzymane pismo Rektora Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach prof. Adama Zajęca nr SD-41/2020 z dnia 7.05.2020 i przekazana rozprawa doktorska

Na obecnym etapie wiedzy wiadomo, że reaktywne formy tlenu (RFT) biorą udział w wielu procesach chorobowych. Potwierdzono ich udział między innymi w patogenezie stanów zapalnych, procesu starzenia, miażdżycy, zawału serca, choroby Alzheimera, cukrzycy, chorób nowotworowych, chorób układu ruchu, a także mogą skutecznie zniweczyć wysiłki sportowców w dążeniu do osiągnięcia coraz lepszych wyników.

Dopóki zachowana jest równowaga między wytwarzaniem RFT, a ich zobojętnianiem są one dla organizmu nieszkodliwe. Zakłócenie tej równowagi zarówno w wyniku zwiększonej generacji RFT, jak i w wyniku osłabienia mechanizmów ich usuwania, lub obu tych procesów jednocześnie prowadzi do ujawnienia się ich toksycznego działania. Wspomniane zaburzenie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w organizmie nosi nazwę stresu oksydacyjnego. Stąd poszukiwanego są metody pozwalające na jego zmniejszenie. Takimi metodami stosowanymi w odnowie

biologicznej sportowców mogą być kriostymulacja ogólnoustrojowa jak i kąpiel w saunie. Stąd wybór tematu pracy Doktorantki uważam za aktualny i uzasadniony.

Praca napisana jest poprawnie pod względem formalno - językowym, stylistycznym. Dysertacja liczy 90 stron i zawiera ona typowe rozdziały charakterystyczne dla pracy doktorskiej. Składa się z wstępu, celów pracy, materiału i metod, wyników, dyskusji, wniosków, streszczenia w języku polskim oraz angielskim. Proporcje na poszczególne rozdziały zostały należycie wyważone.

Dysertacja poprzedzona jest wykazem najczęściej stosowanych skrótów.

„Wstęp” napisany jest zwięźle, logicznie i bardzo przystępnie. Jest dobrym wprowadzeniem czytelnika w pryncypia problematyki rozwiniętej w dalszej części pracy. We „Wstępie” Doktorantka wyczerpująco przedstawiła fizjologiczno-biochemiczne aspekty wysiłku fizycznego, aspekty równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w treningu wytrzymałościowym, wybrane parametry charakteryzujące równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną krwi, związek między neurotroficznym czynnikiem pochodzenia mózgowego i kąpielą w saunie oraz korzystne efekty działania kriostymulacji ogólnoustrojowej i kąpielą w saunie na organizm człowieka.

Głównym celem pracy była ocena wpływu jednorazowych i serii dziesięciu powtarzanych zabiegów termicznych, w tym WBC oraz kąpielą w saunie, na status antyoksydacyjny krwi, markery stresu oksydacyjnego i poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w surowicy krwi u biegaczy narciarskich w przejściowym okresie cyklu treningowego.

Ponadto Doktorantka postawiła 5 celów szczegółowych:

1. Jakie zmiany w funkcjonowaniu systemu obrony antyoksydacyjnej krwi wywołują zabiegi pojedynczej i/lub powtarzanej WBC?
2. Czy zastosowane w badaniach pojedyncze i/lub powtarzane kąpiele w saunie wpływają na stan równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej krwi u badanych zawodników? Jaki jest kierunek i charakter tych zmian?
3. Który z zastosowanych w badaniach zabiegów wywołuje korzystniejsze działanie antyoksydacyjne?
4. Czy zmiany statusu antyoksydacyjnego krwi mają wpływ na stan funkcjonalny błon komórek mięśniowych ocenianych na podstawie aktywności enzymów komórkowych we krwi?

5. Który z zastosowanych bodźców termicznych wpływa na poziom BDNF w surowicy krwi u biegaczy narciarskich? Czy wpływ ten ujawnia się po jednorazowym zabiegu czy po serii zabiegów?

Rozdział „Materiał i metody” zawiera wszelkie konieczne informacje nie dla zorientowania się w sposobie przeprowadzania badania. Doktorantka zastosowała odpowiednie i nowoczesne metody diagnostyczne gwarantujące rzetelność uzyskanych wyników.

Podkreślenia wymaga fakt, że badania zostały wykonane w ramach projektu badawczego nr 0050/RS4/2016/54 finansowanego z funduszy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu „Rozwój Sportu Akademickiego”. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Akademii Wychowania Fizycznego w Katowicach.

W badaniach udział wzięło 12 biegaczy narciarskich (wiek $21 \pm 2,5$ lat) reprezentujących Akademicki Związek Sportowy AWF Katowice, którzy byli poddani jednorazowym i serii dziesięciu powtarzanych zabiegów termicznych (kriostymulacji lub kąpielom w saunie) w okresie przejściowym rocznego cyklu treningowego (w latach 2016/2017). Przed rozpoczęciem zabiegów zawodnikom oceniano podstawowe parametry somatyczne, fizjologiczne i pułap tlenowy.

Uzyskane wyniki poddane zostały właściwie dobranej i przeprowadzonej analizie statystycznej. Wyniki badań Doktorantka przedstawił na 16 rycinach oraz w 17 tabelach. Dzięki przedstawieniu wyników w postaci czytelnych i precyzyjnie opisanych rycin i tabel, które dokładnie zostały omówione w tekście, praca jest przejrzysta i umożliwia pełną interpretację uzyskanych rezultatów.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki są interesujące i ważne, zarówno ze względów poznawczych, jak i dla medycyny sportowej.

Podkreślenia wymaga fakt, że Doktorantka do oceny stresu oksydacyjnego oceniała równolegle wskaźniki nasilenia procesów oksydacyjnych (MDA, TOS, wskaźnik OSI) oraz aktywności układu antyoksydacyjnego, zarówno enzymatycznego, jak i nieenzymatycznego. Tylko taka jednoczasowa ocena umożliwia rzetelną oceną równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej.

Doktorantka w swojej pracy wykazała, że:

- W przypadku zastosowania zabiegów WBC zaobserwowano wzrost aktywności SOD po jednym (+12%) i po serii 10 zabiegów (+20%). Takich zmian nie stwierdzono w aktywności pozostałych enzymów antyoksydacyjnych ocenianych w pracy. Aktywność CAT nie zmieniła się po jednym zabiegu, podczas gdy seria zabiegów wpłynęła na jej obniżenie (-9%). Zastosowane zabiegi nie wpłynęły na aktywność GPx, a w przypadku GR obserwowano wzrost aktywności po 1 zabiegu (+27%), aby po serii zabiegów jej aktywność obniżyła się w stosunku do wartości wyjściowych.
- W przypadku oddziaływania kąpiele w saunie, stwierdzono wzrost aktywności SOD, CAT i GR odpowiednio o 3,7%, 6,1% i 3,2% po jednym zabiegu, podczas gdy seria 10 zabiegów wpłynęła na znaczny wzrost tych enzymów w porównaniu do wartości wyjściowych. SOD wzrósł aż o 34%, a CAT, GPx i GR odpowiednio o 9,1%, GPx o 2,6% i GR o 20%.
- kąpiele w saunie korzystniej wpłynęły na poziom GSH we krwi biegaczy narciarskich. Wzrost tego antyoksydanta obserwowano po 1 (+7,6%) i po serii zabiegów (+27%), podczas gdy tylko jedna sesja WBC wpłynęła na wzrost GSH (+7,6%), a następnie spadek tego antyoksydanta (-3,6%) po 10 zabiegach.
- Kwas moczowy po jednym zabiegu WBC jego stężenie wzrosło, a po serii zabiegów obniżyło się znamienne. Kąpiele w saunie nie indukowały wyraźnych zmian w jego stężeniu
- W miarę wzrostu liczby zastosowanych zabiegów przegrzania ciała sukcesywnie zwiększał się TAS u badanych zawodników. Natomiast liczba zabiegów WBC miała praktycznie taki sam wpływ (około +10%) na jego poprawę;
- pojedynczy zabieg WBC stymuluje wytwarzanie ROS, a seria zabiegów ogranicza skutki jego działania, Podobny, bardziej korzystny efekt, obserwowano po 10 zabiegach sauny;
- wskaźnik OSI wyliczony ze stosunku TOS do TAS obniżył się po obu zabiegach, jednak zdecydowanie większy spadek odnotowano po serii 10 zabiegów w saunie (-36%),

- U badanych narciarzy biegowych wzrost poziomu białek HSP72 nastąpił wraz ze wzrostem TOS po jednym zabiegu WBC, a wraz z obniżeniem całkowitego potencjału oksydacyjnego po 10 zabiegach WBC, obniżył się znacznie poziom HSP72. Natomiast brak zmian w poziomie HSP72 obserwowano po 1 i serii zabieg w saunie fińskiej, podczas których TOS uległ obniżeniu w osoczu krwi, odpowiednio o 20% i 32%.
- Stwierdzono, że wzrostowi stresu oksydacyjnego mierzonego poziomem TOS towarzyszył wzrost CK (+88%) i LDH (+8,6%), jednak już po serii 10 zabiegów, kiedy TOS się obniżył, spadła również aktywność obu badanych enzymów w osoczu krwi. Obniżony poziom stresu oksydacyjnego po zabiegach w saunie nie indukował istotnych statystycznie zmian w poziomie CK i LDH, co korespondowało ze wzrostem TAS i brakiem zmian w poziomie TOS.

Z obowiązku recenzenta podaję również moje uwagi krytyczne, które nie wpływają na wysoką wartość pracy:

- szkoda, że przy skrótach Doktorantka nie przedstawiła też pełnej nazwy angielskiej; np. WBC- whole-body cryostimulation- tłumaczenie polskie kriostymulacja ogólnoustrojowa jest terminem najczęściej używanym w literaturze w przeciwieństwie do terminu kriostymulacja całego ciała, który użyła Doktorantka
- str 18 „Wśród zabiegów opierających się na stosowaniu niskich temperatur wyróżnia się krioterapię i WBC” -tutaj należałoby napisać krioterapię/kriostymulację miejscową i ogólnoustrojową;
- str 23 w charakterystyce grupy badanej oraz na ryc. 1 - Doktorantka nie podała jak do poszczególnych grup zawodnicy byli przydzielani i jak liczne były poszczególne podgrupy;
- str 25 należy podać producenta kriokomory, co było chłodziwem: ciekły azot, powietrze?
- w tabelach jednostka TAS powinna być ummol/l zamiast mmol/l
- szkoda, że na rycinach nie przedstawiono istotności statystycznej względem badanych podgrup;

- str 42 „MDA- wykazano statystycznie istotne różnice w średnich jego stężeniach w zależności od wykonanego zabiegu ($p > 0,05$)” powinno być $p < 0,05$.
- Zamiast poziom lepiej używać stężenie kwasu moczowego
- Szkoda, że Doktorantka nie wyodrębniła jednego podrozdziału podsumowanie wyników, co ze względu na dużą liczbę wyników pozwoliłoby Czytelnikowi na szybsze zorientowanie się w uzyskanych wynikach.

Rzeczowa i kreatywna oraz wszechstronna dyskusja szeroko omawia uzyskane wyniki w zestawieniu z rezultatami innych badaczy zaangażowanych w tę problematykę oraz bogata jest w przemyślenia o znaczeniu praktycznym.

Z rezultatów przeprowadzonego badania Autorka wyciągnęła słuszne wnioski przydatne w podejmowaniu działań dla opracowania przyszłych strategii postępowania w mikrocyklu treningowym, które w pełni korelują z postawionymi celami pracy. Brakuje jednak wniosku głównego podsumowującego uzyskane wyniki.

Przegląd piśmiennictwa opracowany został w oparciu o 158 pozycje literaturowe dobrze dobrane i zacytowane, w większości z ostatnich lat. Doktorantka posiada dużą znajomość literatury przedmiotu.

Przystępując do oceny całości stwierdzam, że praca mgr Agnieszki Gdańskiej stanowi wartościowy i nowatorski dorobek naukowy. Przedstawione uwagi krytyczne wyrażone w niniejszej recenzji nie wpływają na moją wysoką ocenę rezultatów przedstawionych w pracy. Doktorantka wykazała się znajomością piśmiennictwa z zakresu pracy, w sposób umiejętny zaplanowała i przeprowadziła eksperyment, którego wyniki starannie udokumentowała, a w ich omówienie i dyskusję wniosła własne i oryginalne elementy. Rozprawa posiada nowatorski i praktyczny charakter, wnosząc nowe informacje na temat wpływu zarówno temperatur kriogenicznych, jak i ciepła na status antyoksydacyjny krwi, markery uszkodzenia mięśni oraz stężenie neutroficznego czynnika pochodzenia mózgowego u biegaczy narciarskich.

Praca jest spójna, poprowadzona logicznie z bardzo szerokim tłem aktualnej wiedzy, bardzo dobrym warsztatem laboratoryjnym.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Agnieszki Gdańskiej spełnia warunki określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65,

poz. 595, z późn. zm.), w związku z czym zwracam się do Senatu Akademii Wychowania Fizycznego im. J. Kukuczki w Katowicach o przyjęcie dysertacji pt. „Wpływ oddziaływań termicznych na status antyoksydacyjny krwi oraz stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (bdnf) w surowicy krwi u biegaczy narciarskich” jako rozprawy doktorskiej, dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk o kulturze fizycznej. Jednocześnie wobec innowacyjności i dużej wartości merytorycznej pragnę wystąpić z wnioskiem o wyróżnienie pracy.