

Prof. dr hab. Agnieszka Zembroń-Łacny
Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej
Collegium Medicum Uniwersytet Zielonogórski
ul. Zyty 28, 65-046 Zielona Góra
a.zembron-lacny@cm.uz.zgora.pl

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Jakuba Goliniewskiego
wykonanej w Akademii Wychowania Fizycznego
im. Jerzego Kukuczki w Katowicach**

**WPŁYW NAGŁEJ HIPOKSJI I TRENINGU WYTRZYMAŁOŚCIOWEGO
W WARUNKACH HIPOKSJI NA STAN FIZJOLOGICZNY MIĘŚNIA SERCOWEGO**

Intensywny i długotrwały wysiłek dynamiczny angażuje dużą masę mięśniową, tym samym prowadzi do istotnego zwiększenia zużycia tlenu oraz wzrostu rzutu serca, objętości wyrzutowej i częstości pracy serca oraz skurczowego i średniego ciśnienia tętniczego z obniżeniem ciśnienia rozkurczowego i oporu obwodowego. Natomiast intensywny trening statyczny, jak elementy siły ogólnej i dynamicznej w treningu, w niewielkim stopniu zwiększa zużycie tlenu, rzut i częstość pracy serca, nie wpływa na objętość wyrzutową, ale istotnie podnosi ciśnienie tętnicze skurczowe i rozkurczowe. Oznacza to, że obciążenie serca podczas wysiłku dynamicznego ma charakter objętościowy, a podczas wysiłku statycznego głównie ciśnieniowy [Szyszko A i Sianiawski A. W: Kardiologia sportowa w praktyce klinicznej. Red. Braksator W i Mamcarz A. Wyd. PZWL 2016]. Następnym uprawianiu dyscyplin wytrzymałościowych są zmiany wielkości jam serca i grubości ich ścian w obrazie echokardiograficznym oraz zmiany czynności skurczowej i rozkurczowej odbiegających od przyjętych wartości referencyjnych. Uprawia to do rozpoznania sportowej przebudowy serca. Według Szyszko i Sianiawskiego [wyżej wym. cyt.] sportowa przebudowa serca jest wynikiem interakcji między predyspozycjami genetycznymi a określonym rodzajem wysiłku oraz wynikiem wpływu dodatkowych czynników, jak wiek, płeć, wysokość i masa ciała, niedozwolone formy dopingu i schorzenia współistniejące. Powiększenie i przerost lewej komory w okresie obniżenia intensywności i czasu trwania treningów lub całkowitego zaprzestania treningów ulega zmniejszeniu i nie skutkuje upośledzeniem wydolności serca u sportowców. W przeciwieństwie do kardiomiopatii przerostowej oraz nieprawidłowej czynności skurczowej i rozkurczowej prawej lub

obu komór, które są najczęstszą przyczyną nagłych zgonów sportowców. Sportowa przebudowa serca wiąże się z rozwojem zapalenia i stresu oksydacyjnego w obszarze mięśnia sercowego (*inflammatory cardiomyopathy*), co jest niezbędne w regeneracji serca i jego adaptacji do wysiłku fizycznego. Z drugiej strony może być przyczyną niewydolności serca i rozwoju zespołu przetrenowania (*overtraining syndrome*), gdy intensywny trening nie jest równoważony odpowiednim czasem wypoczynku pozwalającym na rozwój odpowiedzi przeciwzapalnej i antyoksydacyjnej. Zapalenie mięśnia sercowego wywołane powtarzanym wyczerpującym wysiłkiem z krótkimi okresami wypoczynku jest przyczyną 5-20% nagłych zgonów sportowców ogółem. Brak danych w przypadku pływaków [Harris KM. et al. Am J Cardiol 2021 doi: 10.1016/j.amjcard.2020.12.028, Waite O. et al. Phys Sportmed 2016 doi: 10.1080/00913847.2016.1135036]. Monitorowanie równowagi pro- i przeciwzapalnej obejmuje m.in. pomiar stężenia kortyzolu i miostatyny, cytokin pro- i przeciwzapalnych. Wysoki poziom mediatorów zapalenia zaburza anaboliczny sygnał i hamuje procesy regeneracji tkanek, co w przypadku mięśnia sercowego, skutkuje utrzymywaniem się wysokiego poziomu markerów uszkodzenia kardiomiocytów, jak izoenzym MB kinazy kreatynowej, mioglobina, sercowa troponina T i I oraz sercowe białko wiążące kwasy tłuszczowe (H-FABP). W ostatnich latach zwrócono szczególną uwagę na rozwój zapalenia mięśnia sercowego u osób podejmujących aktywność fizyczną na poziomie zawodniczym [Compagnucci P. et al. Medicina (Kaunas) 2021 doi: 10.3390/medicina57030277] oraz możliwości redukcji zagrożenia i poprawy hemodynamiki serca poprzez ekspozycję na hipoksję w warunkach kontrolowanych [Maufrais et al. Eur Heart J Cardiovasc Imaging 2017, Stenbridge et al. Exp Physiol 2015; doi: 10.1113/expphysiol.2014.082503, Yang et al. iScience 2023; doi.org/10.1016/j.isci.2023.106328].

Praca doktorska przedstawiona do recenzji została zrealizowana w Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach – w jednym z wiodących ośrodków prowadzących badania oceny wpływu hipoksji normo- i hipobarycznej na stan fizjologiczny organizmu.

Praca ma objętość 68 stron, posiada typowy układ stosowany w rozprawach doktorskich z podziałem na: wprowadzenie, cel badań, materiał i metody, wyniki badań, dyskusja i wnioski oraz streszczenie w wersji polskiej i angielskiej. W tekście pracy znajdują się 2 tabele i 9 rycin. Piśmiennictwo obejmuje 191 pozycji. Projekt uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetyki przy AWF w Katowicach. **Brak informacji o źródle finansowania badań – proszę o wyjaśnienie w trakcie obrony.**

We wprowadzeniu, Autor opisuje zmiany w strukturze i hemodynamice serca u osób regularnie wykonujących wysiłek fizyczny, koncentrując się na wskaźnikach uszkodzenia mięśnia sercowego,

jak izoenzym kinazy kreatynowej CK-MB, mioglobina Mb, sercowa troponina T i I oraz sercowe białko wiążące kwasy tłuszczowe H-FABP. **Proszę w trakcie obrony przedstawić schemat dynamiki zmian stężenia wymienionych wskaźników biochemicznych i wyjaśnić, jakie cechy H-FABP wskazują na jego większą użyteczność diagnostyczną niż CK-MB, Mb czy troponiny w monitorowaniu zmian fizjologicznych i patologicznych, jak choroba niedokrwienna serca.** W kluczowym rozdziale wprowadzenia „Koncepcja treningu w warunkach hipoksji” Autor opisuje modele treningu sportowego z wykorzystaniem hipoksji: *Live High – Train High*, *Live High – Train Low*, *Live Low – Train High*. **Czy istnieją badania wskazujące, który z modeli jest najbardziej optymalny? Czy są przeciwwskazania do zastosowania modelu *Live Low – Train High*? – proszę o odpowiedzi podczas obrony.** Autor wyjaśnia, że w sporcie jest stosowany trening w warunkach hipoksji (*intermittent hypoxic training*, IHT), polegający na naprzemiennych krótkich ekspozycjach zawodników na wysokie niedotlenienie i normoksję. Trening IHT może być prowadzony wg dwóch odmiennych protokołów. **Proszę o przedstawienie w trakcie obrony - w formie jednego schematu – modele treningu wysokościowego (naturalna hipoksja hipobaryczna na wysokości) oraz modele sztucznej hipoksji (przerywana hipoksja hipobaryczna/normobaryczna), wskazując między wym. grupami modeli - podobieństwa odpowiedzi fizjologicznej.** Obecnie IHT jest popularną metodą w sporcie, ale pojawia się także w medycynie klinicznej, ze względu na działanie ochronne przed ostrym lub przedłużającym się niedotlenieniem i niedokrwieniem. Wykazano, że IHT zwiększa potencjał regeneracyjny tkanek poprzez stymulację komórek immunologicznych, hematopoetycznych komórek progenitorowych i komórek progenitorowych serca, co skutkuje wzmocnieniem odbudowy uszkodzonego mięśnia sercowego i innych tkanek [Knox et al. *IJMS* 2021; doi.org/10.3390/ijms22179382, Serebrovskaya i wsp. 2011 *High Alt Med Biol* 2011; [doi:10.1089/ham.2010.1086](https://doi.org/10.1089/ham.2010.1086)]. Kluczową cząsteczką odpowiedzialną za natychmiastową i długotrwałą odpowiedź organizmu na hipoksję, w tym regenerację tkanek i adaptację układu sercowo-naczyniowego do wysiłku fizycznego, jest tlenek azotu NO – uwalniany z S-nitrozohemoglobiny oraz wytwarzany w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych, neutrofilach i neuronach. **Proszę wyjaśnić funkcje fizjologiczne NO i jego wpływ na cykl skurczu i rozkurczu mięśnia sercowego oraz wyjaśnić związek NO z czynnikiem transkrypcyjnym HIF-1. Proszę wymienić najważniejsze geny (spośród 100 będących pod kontrolą HIF-1), których nasiloną ekspresja jest niezwykle istotna w adaptacji organizmu do hipoksji i wysiłku fizycznego.** Wiedza Autora na temat wspomnianej w pracy doktorskiej Nagrodzie Nobla z 2019 roku w dziedzinie medycyny i fizjologii – będzie niezwykle przydatna.

W rozdziale - Cel badań, Autor wyeksponował główny cel przeprowadzonych badań „...analiza wpływu wysiłku interwałowego oraz treningu wytrzymałościowego o wysokiej

intensywności w warunkach hipoksji normobarycznej na stan fizjologiczny mięśnia sercowego, określony poprzez aktywność markerów sercowych: troponiny I (cTnI) oraz T (cTnT), sercowego typu białka wiążącego kwasy tłuszczowe (H-FABP), izoenzymu sercowego kinazy kreatynowej (CK-MB) i mioglobiny (Mb) u pływaków.” Według trzech postawionych hipotez badawczych, Autor założył, że ¹⁾ umiarkowana i krótkotrwała hipoksja obniży przyrost we krwi stężenia markerów uszkodzenia mięśnia sercowego po jednorazowej próbie wysiłkowej (wysiłek interwałowy), oraz ^{2,3)} trening w warunkach hipoksji wzmocni adaptację organizmu do wysiłku fizycznego w trakcie czterech tygodni treningu o charakterze wytrzymałościowym.

W rozdziale - Materiał i metody badań, Autor opisuje proces rekrutacji i randomizacji 16 pływaków: grupa eksperymentalna (IHT $n=8$) i kontrolna (N $n=8$). Badania przeprowadzono zgodnie z protokołem RCT (*randomized controlled trial*), który jest najwyżej ocenianą formą eksperymentu medycznego w klasyfikacji wiarygodności badań medycznych. **Brak informacji o szacowaniu wielkości próby** (wykazanie istotności statystycznej interesujących efektów przy jednoczesnym zapewnieniu odpowiedniej mocy statystycznej badania) – **proszę o wyjaśnienie w trakcie obrony**. Autor prawidłowo opisał zastosowane metody badawcze (w tym biochemiczne i fizjologiczne) oraz przebieg treningu sportowego i treningu w warunkach hipoksji normobarycznej. Bardzo dobry opis metod statystycznych.

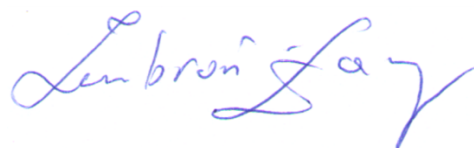
Rozdział „Wyniki” obejmuje analizę zmian stężenia wskaźników uszkodzenia mięśnia sercowego. Wyniki przedstawione w 1 tabeli i na 8 rycinach. Brak w tabelach i tekście wartości wskaźnika d Cohen. **Ocena efektu wpływu IHT na podstawie zmian wartości wskaźnika d Cohena (zakresy podane w rozdz. 3.6 Metody statystyczne) jest niezbędna – proszę o podanie d Cohen oraz interpretacji w trakcie obrony**. Autor wykazał istotny wzrost stężenia troponiny T, Mb, CK-MB i hFABP po wysiłku interwałowym. Brak zmian stężenia troponiny I. Troponiny tworzą kompleksy T, I, C związane z tropomiozyną i aktyną. Należałoby się spodziewać, że uszkodzenie układu białek zaangażowanych w cykl skurcz-rozkurcz będzie skutkowało wzrostem stężenia na obwodzie wszystkich izoform troponin. Autor bardzo dobrze zinterpretował różnice stężenia troponin - w rozdziale - Dyskusja. Porównanie stężenia wskaźników uszkodzenia mięśnia sercowego przed i po 4-tygodniowym treningu w hipoksji i treningu w normoksji pokazało ciekawy kierunek zmian tj. wzrost stężenia troponiny I, obniżenie Mb, hFABP i CK-MB. Natomiast stężenie troponiny T wzrosło w grupie IHT i obniżyło w grupie N. Różnice nie są statystycznie istotne, ale pokazują zróżnicowaną odpowiedź organizmu (mięśnia sercowego) na trening w hipoksji i normoksji. **Proszę wyniki obserwacji porównać do obowiązujących wartości przedziałów referencyjnych dla troponiny I, troponiny T, Mb, CK-MB i h-FABP, i wyjaśnić ewentualne różnice**.

W rozdziale Dyskusja, Autor koncentruje się na interpretacji uzyskanych wyników pomiarów zachowując podział na rozdziały zgodnie z kolejnością pomiarów stężenia wskaźników uszkodzenia mięśnia sercowego. Część pierwsza dyskusji została zakończona stwierdzeniem „*Jednak dotychczas niewiele wiadomo na temat wpływu treningu o wysokiej intensywności realizowanego w warunkach hipoksji na stan fizjologiczny mięśnia sercowego u sportowców. Wyniki niniejszej pracy dostarczają nowych informacji w tym zakresie.*” **Proszę o wyraźne wyjaśnienie – jakich nowych informacji dostarczył wykonany eksperyment medyczny.**

Praca podsumowana jest czterema wnioskami jednoznacznie powiązаныmi z wynikami badań, wnioski są odpowiedzią na postawione pytania badawcze i weryfikują sformułowane hipotezy badawcze.

Przedstawiona mi do recenzji praca jest wykonana zgodnie z protokołem badania obserwacyjnego z grupą kontrolną (RTC), opiera się na prawidłowo opisanych protokołach treningu sportowego i treningu w hipoksji oraz metodach oceny biochemicznych markerów uszkodzenia mięśnia sercowego. Wyniki badań nie budzą wątpliwości, że trening fizyczny wykonywany w warunkach hipoksji wpływa na strukturę kardiomiocytów. Jednak, czy wpływa na stan fizjologiczny serca? Na to pytanie autor mógłby odpowiedzieć dysponując wynikami badań echokardiograficznych (konwencjonalna echokardiografia, konwencjonalna echokardiografia dopplerowska, pulsacyjny doppler tkankowy) - w grupie badanych pływaków zdecydowanie zwiększyłoby wartość przedstawionej dysertacji i stanowiłoby materiał do bardzo dobrej publikacji. Oczywiście przedstawione zastrzeżenia nie umniejszają ogólnie wysokiej wartości pracy.

Praca mgr Jakuba Goliniewskiego odpowiada wymaganiom określonym w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2022 poz. 574). Wnoszę zatem do Rady Dyscypliny Nauk o Kulturze Fizycznej o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



.....
Prof. dr hab. Agnieszka Zembroń-Łacny

Zielona Góra 05 kwietnia 2023 r.