

prof. dr hab. Robert Olek
Akademia Wychowania Fizycznego
im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu
ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Poznań, 11/08/2023

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgra Jakuba Foltyna
pt.: „Wpływ hipoksji normobarycznej o różnym natężeniu
na stężenie wybranych zmiennych biochemicznych
podczas jednorazowego wysiłku oporowego u mężczyzn i kobiet”**

Recenzja została wykonana na podstawie uchwały nr AR001-10-V/2023 Senatu Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach z dnia 23 maja 2023 roku, oraz umowy nr 95/VIII/2023 zawartej dnia 12 czerwca 2023 roku.

Podstawą ubiegania się przez mgra Jakuba Foltyna o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki o kulturze fizycznej jest rozprawa doktorska pt., „Wpływ hipoksji normobarycznej o różnym natężeniu na stężenie wybranych zmiennych biochemicznych podczas jednorazowego wysiłku oporowego u mężczyzn i kobiet”, napisana na 90 stronach, podzielona na 6 rozdziałów, zawierająca 213 pozycji piśmiennictwa, 16 rycin i 10 tabel. Rozprawa doktorska dotyczy zagadnień z zakresu biochemii i fizjologii wysiłku fizycznego, a główna idea niniejszej rozprawy polega na zbadaniu zmian zachodzących w wyniku jednorazowego wysiłku oporowego wykonanego w warunkach normoksji oraz trzech różnych hipoksji. Bardzo istotnym aspektem tej pracy jest realizacja badania z udziałem kobiet. Problematyka niniejszej rozprawy jest bardzo interesująca, o dużym znaczeniu aplikacyjnym. Ponadto doskonale wpisuje się w aktualny nurt badań z zakresu nauk o kulturze fizycznej.

Tytuł rozprawy doktorskiej mgra Jakuba Foltyna tj. „Wpływ hipoksji normobarycznej o różnym natężeniu na stężenie wybranych zmiennych biochemicznych podczas jednorazowego wysiłku oporowego u mężczyzn i kobiet”, sugeruje pomiar zmiennych w trakcie wysiłku. Tymczasem zgodnie ze schematem przebiegu badań (rycina 2, strona 23) i późniejszym opisem wyników, krew do badań pobierana była przed rozpoczęciem wysiłku, po jego zakończeniu i 60 minut później. Co więcej, Autor próbując interpretować uzyskane wyniki stwierdza: „W badaniach własnych nie badano stężenia LA po każdej serii, stąd trudno o jednoznaczne wnioski.” (strona 51). Dlatego uważam, że tytuł rozprawy powinien zostać zmodyfikowany tak, by odpowiadał treściom zawartym w tekście.

Wstęp, w rozprawie nazwany „Wprowadzenie” został podzielony na pięć podrozdziałów: 1.1 Historia treningu z zastosowaniem hipoksji; 1.2 Trening przerywanej hipoksji (IHT); 1.3 Trening oporowy w warunkach hipoksji (IHRT); 1.4 Odpowiedź metaboliczna i hormonalna na trening oporowy w hipoksji; 1.5 Rola hormonów w adaptacji do wysiłku oporowego. Mimo, że tematem pracy jest jednorazowy wysiłek oporowy, większa część Wprowadzenia skupia się na treningu. Wiele uwagi zostało poświęcone wynikom badań, w których wykonywane były biopsje mięśniowe, a tym samym efekty adaptacyjne na poziomie komórkowym. Opisana została budowa HIF (hypoxic inducible factor) włącznie z aktywacją tego białka (strona 9) i wprowadzone zostały pojęcia (np.: mTORC1, AMPK, REDD1, Myf5, MyoD, MRF4; strona 15) które nie mają żadnego przełożenia w dalszej części pracy. Czterokrotnie (strony 14, 17, 18 i 19) podkreślana jest istotność insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) w dotychczasowych badaniach prowadzonych w warunkach hipoksji, dlatego należałoby się spodziewać, że IGF-1 będzie jednym z oznaczanych markerów biochemicznych. Jednak IGF-1 nie został wybrany jako zmienna biochemiczna, której stężenie zostało określone. Z kolei prace, które opisują odpowiedź metaboliczną i/lub hormonalną w następstwie pojedynczego wysiłku oporowego w warunkach hipoksji (zacytowano 8 pozycji), zostały bardzo ogólnikowo opisane łącznie na dwóch stronach (strony 15-17). W tej części można się dowiedzieć o „odpowiedzi hormonalnej i metabolicznej”. Konkretnie informacje zostały podane tylko na temat GH i LA.

Dlatego uważam, że „Wprowadzenie” nie wprowadza czytelnika w tematykę badań.

Celem badań (strona 20) jest „analiza zmian stężenia testosteronu (T), kortyzolu (C), hormonu wzrostu (GH) oraz wybranych markerów metabolicznych, takich jak: mleczan (LA), kinaza kreatynowa (CK), dehydrogenaza mleczanowa (LDH) i kwas moczowy (UA) pod wpływem wysiłku oporowego w warunkach normoksji i hipoksji normobarycznej o różnym natężeniu 3000 m ($FiO_2=14,4\%$), 4000 m ($FiO_2=12,7\%$) i 5000 m ($FiO_2=11,2\%$) u kobiet i mężczyzn aktywnych fizycznie.” W tym miejscu, po raz pierwszy w pracy, pojawiają się pojęcia: kinaza kreatynowa (CK), dehydrogenaza mleczanowa (LDH) i kwas moczowy (UA), jako wybrane markery metaboliczne. We Wprowadzeniu nie ma żadnego uzasadnienia, wyjaśnienia, dlaczego właśnie te wskaźniki zostały uznane za istotne. Co prawda można znaleźć informacje (strona 12), że „Wyższy udział metabolizmu glikolitycznego będzie powodował zwiększoną akumulację LA, jonów wodorowych, fosforu nieorganicznego i innych metabolitów, które z kolei mogą potęgować wyrzut hormonów, produkcję cytokin oraz zwiększać obrzęk błon komórkowych” (!), jednak „Wymienione mechanizmy mogą działać korzystnie w kontekście treningu ukierunkowanego na hipertrofię mięśniową”.

Pytania badawcze (strona 20) postawiono trzy:

1. Czy różne natężenie hipoksji powoduje ograniczenie zdolności wysiłkowych podczas wysiłku oporowego o wysokiej intensywności u mężczyzn i kobiet?
- nie dotyczy tematu pracy, ponieważ nie jest to zmienna biochemiczna
2. Czy poziom natężenia hipoksji wpływa na zakres zmian markerów metabolicznych u mężczyzn i kobiet?
3. Czy wysiłek oporowy o wysokiej intensywności powoduje zmianę stężenia testosteronu (T), kortyzolu (C), i hormonu wzrostu (GH) we krwi mężczyzn i kobiet, oraz czy poziom natężenia hipoksji różnicuje odpowiedź hormonalną na zadany wysiłek?
- pierwsza część tego pytania to temat badań prowadzonych od wielu lat i na tę część pytania Autor częściowo odpowiedział we Wprowadzeniu.

Materiał i metody badań. Badania z udziałem kobiet wymagają szczególnej uwagi. Istotnym czynnikiem mogącym wpływać na uzyskane wyniki są zmiany wynikające z cyklu menstruacyjnego. Jednak Autor pominął ten aspekt w planowaniu prac eksperymentalnych. „Tydzień po tygodniu, w odstępie 7 dni zrealizowano 4 sesje w warunkach normoksji i hipoksji

normobarycznej ...” (strona 22), co oznacza, że badane kobiety wykonywały testy w różnych fazach cyklu menstruacyjnego.

Metody statystyczne. „Liczebność próby określono na podstawie statystycznej analizy mocy testu (G*Power 3.1). Analiza wykazała, że dla $n = 8$, przy zachowaniu akceptowalnej mocy testu ($1 - \beta = 0,80$) i $\alpha = 0,05$ możliwe będzie wykrycie wielkości efektu na poziomie $>0,50$.” (strona 24). Z informacji zawartej w drugim zdaniu można się dowiedzieć, że liczebność próby została przyjęta $n = 8$, a nie określona. Dlatego w pracy należałoby umieścić informację jak określono liczebność próby, z podaniem konkretnego testu, dla którego zostały przyjęte założenia.

Zastosowanie dwuczynnikowej analizy wariancji pozwoliłoby na jednoczesne określenie różnic wynikających z czasu pobrania próbki krwi (spoczynek, max, 1h po) oraz warunków wykonania wysiłku (normoksji, 3000m, 4000m, 5000m). Obliczanie trzech różnych delt (sp – max, max – 1h, sp – 1h) wydaje się z zamazywać ten obraz, szczególnie w późniejszej interpretacji wyników.

Stwierdzenie: „Według najnowszych doniesień różnice międzysobnicze dotyczące odpowiedzi organizmu na utlenowanie hemoglobiny przy stałej wysokości mogą wpływać na nagłą reakcję organizmu i procesy adaptacyjne. Jednakże obecnie brakuje prac potwierdzających tę hipotezę w kontekście odpowiedzi hormonalnej i metabolicznej.” (strony 16-17) wydaje się sugerować zastosowanie pulsoksymetru w trakcie badań. Niestety taki pomiar nie został wykonany.

Opisując wykorzystane w trakcie badań metody, należałoby doprecyzować w jaki sposób indukowane były warunki hipoksji i w jaki sposób uzyskano „ślepią próbę”.

Wyniki. O ile całkowita liczba powtórzeń ćwiczeń wykonanych podczas jednostki treningowej w normoksji i hipoksji u mężczyzn wykazuje pewną zależność (rycina 3, strona 26), tak w przypadku kobiet nie ma takiej zależności (rycina 4, strona 26). Badania prowadzone od wielu lat wykazują, że siła mięśni szkieletowych zależy od fazy cyklu menstruacyjnego (Gemberale i wsp. 1975, PMID: 1226506; Sarwar i wsp. 1996, PMID: 8735711; Phillips i wsp. 1996, PMID: 8910237; Kissow i wsp. 2022, PMID: 35471634). Nie można stwierdzić z całą pewnością, że wynik ten jest błędny, ale wykluczenie efektu fazy cyklu umożliwiłoby uzyskać wyniki bardziej wiarygodne.

Nakamura i wsp. 2011 (praca cytowana) stwierdzili, że nie ma różnic w spoczynkowym stężeniu testosteronu, kortyzolu i hormonu wzrostu pomiędzy wczesną fazą folikularną (early follicular) i środkową fazą lutealną (midluteal). Niemniej, inne prace wykazują, że w zależności od fazy cyklu menstruacyjnego występują statystyczne różnice w stężeniu krążącego testosteronu (Bui i wsp. 2013, PMID: 23127814; Huang i wsp. 2022, PMID: 36371319), kortyzolu (Genazzani i wsp. 1975, PMID: 169283; Hamidovic i wsp. 2020, PMID: 32582024) czy hormonu wzrostu (Hornum i wsp. 1997, PMID: 9173963). Mimo że mogą się nie różnić pomiędzy wczesną fazą folikularną i środkową fazą lutealną, uzyskane wartości szczytowe są różne. I tak na przykład, spoczynkowe stężenie testosteronu badanych kobiet w warunkach normoksji = 1.62 nmol/L, podczas gdy w hipoksji 5000m = 1.24 nmol/L (rycina 8, strona 32); spoczynkowe stężenie kortyzolu w normoksji = 319 nmol/L, podczas gdy w hipoksji 3000m = 504 nmol/L (rycina 9, strona 34); spoczynkowe stężenie hormonu wzrostu w warunkach normoksji = 0.43 ng/mL, podczas gdy w hipoksji 5000m = 0.05 ng/mL (rycina 11, strona 37). Gdyby Autor zastosował metodologię opisaną w badaniach Nakamura i wsp. 2011, można byłoby mieć pewność uzyskanych wyników. Jednak, badane kobiety wykonywały wysiłki co tydzień, dlatego istnieje możliwość, że faza cyklu menstruacyjnego miała wpływ na uzyskane wyniki.

Zastanawiające jest, dlaczego u młodych zdrowych mężczyzn spoczynkowe stężenie testosteronu przed badaniem w warunkach hipoksji 5000m wynosiło średnio 9.05 nmol/L, podczas gdy przed badaniem w warunkach normoksji średnio 15.24 nmol/L (rycina 5, strona 28).

Jeśli: „Dla wszystkich analiz przyjęto poziom istotności statystycznej $p < 0.05$ ” (strona 25), to „... dla stężenia C na wysokości 4000m ($F=3,46$; $p<0,07$)” nie ma podstaw do odrzucenia hipotezy zerowej na korzyść alternatywnej, a tym samym wykonania testu post-hoc.

Dyskusja. Autor powinien przedyskutować wszystkie możliwe aspekty prezentowanych wyników. Pisząc „Na podstawie powyższych doniesień można przypuszczać, że faza cyklu nie miała istotnego wpływu na wielkość wzrostu stężenia T pod wpływem zaaplikowanego wysiłku oporowego” (strony 57-58), czy „Brak kontroli fazy cyklu jest pewnym ograniczeniem badań własnych, jednakże istnieją dowody, że faza cyklu menstruacyjnego nie wpływa na zakres wyrzutu C u kobiet, które nie przyjmują antykoncepcji hormonalnej” (strona 61) pokazuje tylko

jedną stroną medalu. W odniesieniu do hormonu wzrostu ta próba jest nieco lepsza: „Ograniczeniem badań własnych jest niekontrolowana faza cyklu menstruacyjnego, podczas której dochodzi do wahania stężenia estrogenów, z kolei wyrzut GH może być w pewnym stopniu zależny od spoczynkowego stężenia estrogenów” (strona 68), co dobitnie pokazały badania Hornum i wsp. 1997 (PMID: 9173963). W tym miejscu można byłoby wytłumaczyć czytelnikowi, dlaczego ten estrogen nie został zmierzony w pobranych próbkach.

Rzetelność uzyskanych wyników jest podstawą postępu w nauce. Stwierdzenia: „W przypadku kobiet może być to powodem zachowawczego wykonania testu 1RM i w konsekwencji niedoszacowania realnego obciążenia 70%RM.” (strona 49), oraz „Może to oznaczać zachowawcze wykonanie protokołu testowego i w konsekwencji niedoszacowanie obciążenia w protokołach testowych w normoksji i hipoksji” (strona 51) przekazują informację, iż Autor sam nie jest przekonany co do poprawności wykonanych testów, a tym samym rzetelności uzyskanych wyników. W takim przypadku należałoby powtórzyć badanie.

Poważnych podejrzeń w kontekście podstawowej wiedzy Autora można nabrać czytając stwierdzenie: „kinaza keratynowa i dehydrogenaza mleczanowa, są fragmentami ciężkiego łańcucha miozyny (troponiny I i mioglobiny) ...” (strona 52). W dalszej części dyskusji: „W grupie kobiet hipoksja wpłynęła także na istotnie wyższą aktywność LDH bezpośrednio po wysiłku oporowym, jak i 1 h po w próbie na 5000 m. Warto zaznaczyć, że w przypadku kobiet w próbie na 5000 m hipoksja nie wpłynęła na ilość wykonanych powtórzeń. Oznacza to, że obciążenie mechaniczne nie uległo redukcji, a silny bodziec hipoksji mógł wpłynąć na zwiększenie obciążenia metabolicznego. W badaniach (Linag i wsp. 2016) odnotowano zwiększoną ekspresję konkretnego izoenzymu LDH-b w negatywnej korelacji do wewnątrzmięśniowego pH.” (strona 53) Badania Liang i wsp. 2016 (nie: „Linag”) wykazują zmiany w ekspresji mRNA dla izoenzymu LDH na poziomie komórki mięśniowej. Łącząc to ze zdaniem: „Niemniej jednak, środowisko hipoksyjne na 5000 m było wymagającym bodźcem metabolicznym, ponieważ na tej wysokości odnotowano najwyższy wzrost aktywności LDH bezpośrednio po wysiłku.” (strona 65) można odnieść wrażenie, że Autor mierzoną w swoich badaniach aktywność LDH odnosi do przemian metabolicznych wewnątrz komórki mięśniowej.

Jeśli liczebność próby została określona na podstawie statystycznej analizy mocy testu

(G*Power 3.1) (strona 24), to nie ma podstaw do twierdzenia, „...niewielka liczebność badanych grup (n=8 i n=8) stanowiły silny argument, aby nie porównywać statystycznie odpowiedzi hormonalnej i metabolicznej dla grup kobiet i mężczyzn...” (strona 50); „...nie wykazano istotności statystycznej, prawdopodobnie ze względu na zbyt małą liczbę badanych” (strona 62); „Brak istotnych statystycznie różnic w wyrzucie GH pomiędzy normoksją a hipoksją można tłumaczyć niewielką liczbą badanych ...” (strona 66).

Kwas moczowy, jedna z wybranych zmiennych biochemicznych w dyskusji to cztery zdania podstawowych informacji (strona 52), które raczej pasują do wstępu. Uzyskane wyniki nie zostały w żaden sposób porównane do wcześniejszych prac opisujących zmiany w stężeniu kwasu moczowego po wysiłkach w warunkach hipoksji (np. Dunnwald i wsp. 2022, PMID: 35812339).

Określenie „do upadku mięśniowego” (strony 14 i 57) nie jest mi znane i dlatego ciężko mi się do tego odnieść.

Piśmiennictwo: Tylko na pierwszej stronie pracy (strona 6) zacytowane zostały dwie pozycje, których nie ma w spisie piśmiennictwa – Sinex i Chapman, 2015; Faiss i in. 2013. Zdanie: „Co więcej, zmniejszone utlenowanie mózgu spowodowane spadkiem utlenowania krwi tętniczej (SaO₂), może powodować hamowanie aktywacji korowej motoneuronów, co z kolei może być przyczyną ograniczenia wydajności wysiłków bazujących na metabolizmie beztlenowym (Millet i wsp. 2012). (strona 8) wzbudziło moje zaciekawienie i chęć poszerzenia wiedzy w tym temacie. Niestety w spisie piśmiennictwa jest tylko Millet i wsp. 2016 oraz Millet i Girard 2017. Ponadto w spisie piśmiennictwa podwójnie występują pozycje: Brocherie i wsp. 2017; Feriche i wsp. 2017; Kraemer i Ratamess 2005; Kurobe i wsp. 2015. To tylko wybrane przykłady podstawowych błędów, świadczących o niestaranności Autora.

Przykłady innych błędów, przez niektórych uznawane jako „oczywiste omyłki pisarskie”:

strona 8 – „przybywanie”

strona 13 (rycina 1) – „obrzęk tkanki mięśniowej”

strona 27 (i wiele innych) – „...stężenie ... był...”

strona 51 – „Ponad to”

strona 52 – „5000m – FiO₂=14,4%”

Podsumowanie i konkluzja

Zgodnie z art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, jako recenzent niniejszej rozprawy doktorskiej, jestem zobowiązany stwierdzić, czy rozprawa doktorska Pana mgra Jakuba Foltyna spełnia poniższe warunki wynikające z obowiązujących przepisów prawa:

1. Rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie albo dyscyplinach oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej.
2. Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne.

W związku z przedstawionymi wyżej uwagami stwierdzam, że w mojej opinii rozprawa doktorska Pana mgra Jakuba Foltyna nie spełnia warunków stawianych rozprawom doktorskim w świetle obecnych uregulowań prawnych. Pomimo nakładu pracy włożonego przez Autora, wskazane mankamenty nie pozwalają na dopuszczenie rozprawy do dalszych etapów postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora.

prof. dr hab. Robert Olek

