

Wrocław, 29 marca 2022 r.

Prof. dr hab. Małgorzata Słowińska-Lisowska

Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Marty Flis

**pt. „Zmiany stężenia czynnika wzrostu fibroblastów (FGF21)
w odpowiedzi na wysiłek fizyczny i ogólnoustrojową krioterapię”**

Promotorami rozprawy są: Pani Prof. dr hab. Ewa Ziemann oraz Pan dr hab. Giovanni Lombardi

Doktorantka, korzystając z możliwości stworzonej przez ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. z późn. zm., zgodnie z jej treścią (art. 13 ust. 2), przygotowała spójny tematycznie zbiór artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych posiadających wskaźnik oddziaływania Impact Factor, a tym samym indeksowanych we wszystkich bibliograficznych bazach danych, co spełnia kryteria określone w/w ustawie.

Praca na stopień doktora nauk o kulturze fizycznej przygotowana przez Panią Martę Flis obejmuje monotematyczny cykl publikacji naukowych, składający się z trzech artykułów pod wspólnym tytułem **„Zmiany stężenia czynnika wzrostu fibroblastów (FGF21) w odpowiedzi na wysiłek fizyczny i ogólnoustrojową krioterapię”**.

W skład cyklu wchodzi trzy oryginały publikacji:

1. **Beneficial effects of whole-body cryotherapy on glucose homeostasis and amino acid profile are associated with a reduced myostatin serum concentration (2021);**
Marta Kozłowska, Jakub Kortas, Małgorzata Żychowska, Jędrzej Antosiewicz,

Klaudia Żuczek, Silvia Perego, Giovanni Lombardi, Ewa Ziemann; *Scientific Reports*, DOI: 10.1038/s41598-021-86430-9; Impact Factor 4.379, MEiN 140 pkt.

2. **Short and long-term effects of high-intensity interval training applied alone or with whole-body cryostimulation on glucose homeostasis and myokine levels in overweight to obese subjects** (2021); **Marta Kozłowska-Flis**, Ewa Rodziewicz-Flis, Katarzyna Micielska, Jakub Kortas, Joanna Jaworska, Andżelika Borkowska, Veronica Sansoni, Silvia Perego, Giovanni Lombardi, Ewa Ziemann; *Frontiers in Bioscience- Landmark*, DOI:10.52586/5015; Impact Factor 4.009, MEiN 70 pkt.
3. **Nordic walking rather than high intensity interval training reduced myostatin concentration more effectively in elderly subjects and the range of this drop was modified by metabolites of vitamin D** (2021); Katarzyna Micielska[†], **Marta Flis[†]**, Jakub Kortas, Ewa Rodziewicz-Flis, Jędrzej Antosiewicz, Krystian Wochna, Giovanni Lombardi, Ewa Ziemann; *Nutrients*, DOI: 10.3390/nu13124393; Impact Factor 5.719, MEiN 140 pkt.

Odbitki w/w publikacji zostały załączone do manuskryptu pracy doktorskiej.

Sumaryczna punktacja przedstawionego osiągnięcia naukowego Pani mgr Marty Flis w postaci monotematycznego cyklu trzech publikacji naukowych, wynosi **14.107 IF**, **350** punktów MEiN. Wartości te są imponujące, szczególnie jak na osiągnięcie, które jest podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora nauk o kulturze fizycznej.

Doktorantka jest pierwszym autorem w dwóch publikacjach oraz, co podano w publikacji trzeciej, jest równorzędnie pierwszym autorem z Katarzyną Micielską.

Zgodnie z oświadczeniami pozostałych autorów Pani Magister Marta Flis miała wiodący udział w opracowaniu koncepcji i przygotowaniu projektu badań, wykonaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników badań oraz przygotowaniu manuskryptów prac.

Pisemne zgody współautorów zostały dołączone do pracy.

W mojej opinii powinna być w oświadczeniu współautorów adnotacja, że wyrażają zgodę na umieszczenie publikacji ich współautorstwa w cyklu monotematycznych prac będących podstawą do ubiegania się o stopień doktora (szczególnie dotyczy to trzeciej publikacji, w której pierwszym autorem jest Pani Katarzyna Micielska).

Należy zauważyć, iż prace eksperymentalne Doktorantki zostały opublikowane w wysoko punktowanych, prestiżowych czasopismach o zasięgu międzynarodowym:

Scientific Reports, Frontiers in Bioscience- Landmark, Nutrients. Praca opublikowana w 2021 roku w czasopiśmie *Scientific Reports* była do tej pory już 3 razy cytowana (wg *Web of Science* na dzień 22.04.2022 r.), co niewątpliwie świadczy o jej dużej wartości naukowej. Należy podkreślić, że publikacje są przygotowane bardzo starannie pod względem edytorskim, zawierają zarówno tabele, jak i rysunki, które dodatkowo podnoszą ich wartość merytoryczną.

Moje wątpliwości budzi podanie przez Panią Magister tylko nr DOI dla publikacji, a nie pełnych danych bibliograficznych. DOI to cyfrowy identyfikator dokumentu elektronicznego jest tzw. lokalizatorem zasobu elektronicznego w Internecie. Dokument może mieć nadane DOI, ale nigdy się nie ukazać (może czekać w „przechowalni”), albo ukazać się na przykład po 2 latach w zmienionej formie. Wszystkie publikacje aktualnie mają nadane numery oraz strony w periodykach i powinno to być podane w dysertacji.

Należy podkreślić, że projekt badawczy, w którym uczestniczyła Pani Magister był finansowany przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu OPUS 13 (publikacja I i II) oraz OPUS 15 (publikacja III).

Wydaje się, iż ocena rozprawy doktorskiej przygotowanej na podstawie opublikowanych prac naukowych dotyczących jednego tematu wiodącego, wymaga od recenzenta odmiennego niż w klasycznych rozprawach podejścia do takiej dysertacji, z uwzględnieniem nieco innych aspektów. Publikacje zamieszczone w czasopismach posiadających współczynnik oddziaływania IF poddano już ocenie pod względem merytorycznej poprawności przez recenzentów będących specjalistami z obszaru badawczego, którego one dotyczyły.

Należy podkreślić, że aktywność fizyczna należy do najskuteczniejszych środków służących do utrzymania dobrego zdrowia fizycznego i psychicznego.

Aktualnie nie ma wątpliwości co do faktu, że obniżony poziom aktywności fizycznej jest silnym, niezależnym czynnikiem predykcyjnym umieralności ogólnej. Zostało to potwierdzone w wielu badaniach kohortowych. Wysiłek fizyczny jest także metodą profilaktyki i leczenia szeregu schorzeń. Szczególne znaczenie ma fakt, iż umiarkowana, systematyczna aktywność fizyczna może zapobiegać globalnym epidemiom: chorobom układu naczyniowo-sercowego, otyłości i cukrzycy.

Niewątpliwie dużym wyzwaniem jest odpowiedni dobór stosowanych obciążeń wysiłkowych, czas ich trwania oraz intensywność. Coraz częściej poszukuje się też połączenia aktywności fizycznej ze stosowaniem innych bodźców np. terapii zimnem w celu zwiększenia jej pozytywnego oddziaływania na organizm człowieka.

Trzeba zauważyć, że krioterapia ogólnoustrojowa może mieć wielokierunkowe działanie: hormonalne, immunologiczne, antyoksydacyjne i metaboliczne.

Udokumentowane jest licznymi publikacjami przeciwwzapalne działanie terapii zimnem ale należy uwzględnić, że silnie obniżona odpowiedź przeciwwzapalna może spowolnić i zredukować zmiany indukowane treningiem. W kontekście tego należy krioterapię ogólnoustrojową stosować bardzo rozważnie i precyzyjnie dobierać jej parametry oraz stosowane jednocześnie obciążenia wysiłkowe.

Badania Pani mgr Marty Flis bardzo dobrze wpisują się w nurt poszukiwań optymalnych procedur treningu zdrowotnego.

Rozprawę doktorską stanowi 23 stronicowy wydruk komputerowy zawierający posumowanie trzech artykułów, oświadczenia współautorów publikacji oraz odbitki prac.

We wstępie, Autorka w oparciu o dane z piśmiennictwa, uzasadnia cel swoich badań. Doktorantka sformułowała cztery szczegółowe cele badań i pięć hipotez badawczych. W mojej ocenie należało zredukować ogólny cel badań adekwatny do tematu cyklu publikacji.

Oczywiście jest to moja drobna uwaga nie mająca istotnego znaczenia dla wartości merytorycznej rozprawy.

Należy podkreślić, że zarówno pytania badawcze, jak i hipotezy badawcze są sformułowane bardzo precyzyjnie i poprawnie.

W rozdziale Materiały i Metody Pani mgr Marta Flis charakteryzuje badane osoby, opisuje stosowane metody badawcze oraz bardzo dokładnie opisuje zastosowane testy wysiłkowe i protokoły badań.

Na uwagę zasługuje zastosowanie do oznaczeń składu ciała oraz wskaźników biochemicznych nowoczesnych metod o wysokiej czułości oraz specyficzności, co zdecydowanie podnosi wartość naukową projektów badawczych.

Przykładowo oznaczanie składu ciała za pomocą urządzenia wykorzystującego zjawisko absorpcjometrii rentgenowskiej o podwójnej energii (DXA). Jest to bardzo dokładna i wysoce specyficzna metoda, nie podlegająca wpływowi innych czynników. Oznaczanie stężenia aminokwasów za pomocą wysoko wydajnej chromatografii cieczowej z odwróconą fazą jonową połączonej z tandemową spektrometrią mas. Kolejnym nowatorskim i oryginalnym elementem zastosowanej metodologii jest oznaczanie stężenia metabolitów witaminy D za pomocą techniki tandemowej spektrometrii mas sprzężonych z wysokosprawną chromatografią cieczową (LC-MS/MS). Dzięki wysokiej specyficzności i czułości za-

stosowanej metodyki badań możliwe jest w tym przypadku uniknięcie wpływu czynników związanych z reakcjami krzyżowymi przeciwciał używanymi w metodach immunologicznych.

Stosowanie do oznaczeń naukowych tzw. "złotych standardów" metodologicznych jest bardzo istotne i uwiarygadnia otrzymane wyniki badań oraz pozwala na prawidłowe wnioskowanie. Niestety w rozprawach doktorskich często ze względów organizacyjnych i/lub finansowych nie stosuje się prawidłowych narzędzi badań naukowych.

W rozdziale Wyniki Badań Doktorantka opisuje wyniki opublikowane w poszczególnych pracach.

Do najważniejszych wyników Pani Marty Flis można zaliczyć wykazanie, że dwa tygodnie ekspozycji na ogólnoustrojową krioterapię spowodowało obniżenie stężenia czynnika wzrostu fibroblastów, glukozy, insuliny oraz wskaźnika HOMA-IR. Poprawa profilu metabolicznego była widoczna szczególnie wśród starszych uczestników poddanych krioterapii. Wielokrotnej ekspozycji na niskie temperatury towarzyszył istotny wzrost stężenia adiponektyny i równoczesne obniżenie poziomu miostatyny. Natomiast stężenie badanych aminokwasów: waliny i asparaginy znacząco się obniżyło. Profil lipidowy nie uległ zmianom pod wpływem zastosowanej procedury badawczej.

Sześć jednostek treningu interwałowego o wysokiej intensywności (HIIT) spowodowało istotny wzrost stężenia czynnika wzrostu fibroblastów u nieaktywnych osób z nadwagą i otyłością. Zmianie tej towarzyszył wzrost stężenia adiponektyny i obniżenie wisfatyny. Jednocześnie, w grupie trenującej stwierdzono obniżenie stężenia trójglicerydów oraz poprawę wskaźnika HOMA-B. Niestety trening w połączeniu z krioterapią nie wywołał podobnych zmian. Spowodował tylko przejściowe obniżenie spoczynkowego stężenia glukozy we krwi.

Zastosowany bodziec wysiłkowy w postaci treningu interwałowego o wysokiej intensywności przeprowadzony wśród osób w średnim i starszym wieku nie spowodował znaczących zmian we wskaźnikach metabolizmu glukozy, profilu lipidowego oraz stężenia cytokin. Natomiast trzydzieści sześć sesji treningowych przeprowadzonych 3 razy w tygodniu przez 12 tygodni, w których dominowały wysiłki wytrzymałościowe (Nordic Walking) było istotnym bodźcem, po którym wykazano obniżenie miostatyny oraz osteoklacyiny w surowicy krwi.

W badaniach tych nie wykazano natomiast zmian stężenia czynnika wzrostu fibroblastów, który jest tematem cyklu publikacji.

Kolejny rozdział dysertacji to dyskusja.

Moim zdaniem zasługuje on na wyróżnienie. Bardzo często w rozprawach doktorskich składających się z cyklu publikacji ten rozdział jest pomijany, ponieważ każdy artykuł go zawiera.

Pani mgr Marta Flis w tym rozdziale podsumowała wyniki trzech eksperymentów badawczych, porównała je z badaniami innych autorów, a co najważniejsze podjęła próbę wyjaśnienia mechanizmów występowania wielu interesujących zależności.

Na podkreślenie zasługuje umiejętność interpretacji uzyskanych wyników badań, co pozwala stwierdzić, iż Doktorantka posiada duże umiejętności i wiedzę niezbędną w pracy badawczej.

Kolejnym rozdziałem są wnioski. Należy niewątpliwie zauważyć, że uzyskane przez Panią Magister wyniki badań mają duże znaczenia poznawcze oraz aplikacyjne. Na szczególną uwagę zasługuje ostatni wniosek cyt. „Trening NW okazał się bardziej skuteczny w wywoływaniu zmian stężenia miokin we krwi u osób starszych niż HIIT, przy czym zmiany te zależały od stężenia metabolitów witaminy D. Nie potwierdziło się nasze początkowe założenie, że trening HIIT o małej objętości i wysokiej intensywności może być skuteczną alternatywą dla treningu NW o dużej objętości i małej intensywności w wywoływaniu zmian prozdrowotnych u osób w średnim i starszym wieku”.

Podczas obrony rozprawy chciałabym, żeby Doktorantka scharakteryzowała szczególnie w oparciu o wyniki metaanaliz jaki jest aktualnie najbardziej rekomendowany wysiłek prozdrowotny.

Rozprawa zawiera też rozdział streszczenie w języku polskim oraz angielskim.

Z obowiązku Recenzenta przedstawię bardzo drobne nieprawidłowości sformułowań, które zawarto w przedstawionej mi do oceny pracy doktorskiej.

Strona 9 cyt. „Wyniki prezentowanych badań uzupełniono o ocenę zmian stężenia innych czynników, takich jak inkretyn: żołądkowego peptydu hamującego (GIP) i glukagonopodobnego peptydu 1 (Glu-OC) formy osteokalcyny, a także decorin, które mogą mieć znaczenie dla regulacji metabolizmu i gospodarki węglowodanowej, mimo iż nie jest to ich pierwszorzędowa funkcja”. Sformułowanie pierwszorzędowa jest moim zdaniem użyte nieprawidłowo w zdaniu.

Strona 14 cyt. „Pojedyncza ekspozycja WBC obniżyła także stężenie FGF21 (z 280.4 ± 160.5 do 239.7 ± 166.6 pg·mL⁻¹), jednak zmiana ta nie osiągnęła istotności statystycznej

($p = 0.07$)". Moim zdaniem jeżeli zmiana jest nieistotna statystycznie to nie możemy pisać, że „obniżyła stężenie” tylko ewentualnie, że taki był trend zmian.

Strona 19 cyt. „W przeglądzie literatury, zmiany stężenia FGF21 na podejmowany wysiłek fizyczny zarówno pojedynczy, jak i powtarzany są niespójne”.

Sformułowania „literatura” oraz „niespójne” są moim zdaniem niewłaściwe dla języka naukowego i nieprecyzyjne.

Autorka używa słowo „oznaczano we krwi”, a powinno być „w surowicy” lub „osocz”, ewentualnie „krwi pełnej”.

Należy podkreślić, iż większość moich uwag ma charakter dyskusyjny i nie wpływa w istotnym stopniu na wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej.

Trzeba też zauważyć, że jest to praca doktorska z cyklu prac ocenionych, recenzowanych przez recenzentów zewnętrznych i przyjętych do druku.

Taka forma przedstawiania rozprawy doktorskiej z mojego punktu widzenia zasługuje na szczególne wyróżnienie. Tego typu rozprawy doktorskie mają niewątpliwie duże walory metodologiczne, a wyniki badań mogą być szybciej udostępnione i cytowane przez innych badaczy.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską uważam, że praca spełnia wszystkie wymagania i wnoszę do Rady Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku o dopuszczenie Pani mgr Marty Flis do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska kwalifikuje doktorantkę do nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk o kulturze fizycznej

Ponadto ze względu na nowatorski i oryginalny charakter badań Pani mgr Marty Flis oraz duże walory poznawcze i aplikacyjne uzyskanych wyników badań, wnioskuję do Rady Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku o wyróżnienie rozprawy.

Małgorzata Słowińska-Lisowska


PROREKTOR
ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą
prof. dr hab. Małgorzata Słowińska-Lisowska