

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Kochanowicz
pt. „*Wpływ zdalnego hartowania przez niedokrwienie kończyny dolnej na
zmiany wybranych markerów stanu zapalnego indukowanych maksymalnym
wysiłkiem anaerobowym*”**

Od dłuższego czasu duże zainteresowanie wśród naukowców budzi zjawisko „hartowania przez niedokrwienie”, a zwłaszcza tzw. „hartowanie na odległość”, które poprzez epizody niedokrwienia jednego łóżyska naczyniowego lub narządu może korzystnie wpływać na przebieg incydentów niedokrwiennych w innych obszarach naczyniowych lub narządach. Pomimo faktu, że zjawisko to coraz częściej wykorzystywane nie tylko w medycynie, ale również w sporcie, m. in. do poprawy możliwości siłowych lub maksymalnej wydolności wysiłkowej, to jego mechanizm nie jest do końca poznany zagadnieniem. Dlatego też z pełnym przekonaniem stwierdzam, że tematyka badawcza stanowiąca przedmiot rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Kochanowicz wydaje się szczególnie interesująca.

Struktura pracy i ocena treści

Manuskrypt, który otrzymałam do oceny to liczące 108 stron opracowanie zgodne z powszechnie obowiązującymi wymogami w pracach badawczych z zakresu nauk o kulturze fizycznej. Autorka przedstawiła wyniki badań prowadzonych w ramach projektu badawczego finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (grant N RSA4 06754), wykonanych pod opieką naukową Pana prof. dr hab. Jędrzeja Antosiewicza. Dokumentację uzyskanych wyników stanowi 12 tabel i 15 rycin. Obszerne piśmiennictwo w całości obejmuje anglojęzyczne prace oryginalne. Na początku dysertacji Autorka zamieściła wykaz najczęściej używanych skrótów, z kolei

na końcu zamieściła streszczenie w języku polskim i angielskim oraz kopię dokumentu potwierdzającego otrzymanie zgody Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badań.

We „Wprowadzeniu”, które poprzedza część przeglądową pracy, Autorka szczegółowo wyjaśniła zjawisko hartowania przez niedokrwienie i korzyści wynikające z jego zastosowania w medycynie i sporcie. W kolejnym rozdziale pt. *„Problem badawczy w literaturze”* wyróżniła dwa obszerne podrozdziały, stanowiące logiczną całość i stopniowo wprowadzające w meritum podjętego problemu badawczego. W pierwszym z nich omówiła, w oparciu o liczne pozycje naukowe, wpływ hartowania przez niedokrwienie na funkcje i możliwości wysiłkowe organizmu. W kolejnym podrozdziale przeanalizowała zmiany adaptacyjne wywołane wysiłkiem fizycznym, zwracając szczególną uwagę na znaczenie licznych cytokin wydzielanych przez pracujące mięśnie szkieletowe.

W kolejnym rozdziale pt. *„Metodologia badań własnych”* sformułowała dwa cele badawcze. Celem pierwszego była *„ocena wpływu jednorazowej i 10 dniowej procedury zdalnego hartowania przez niedokrwienie kończyny dolnej na poziom maksymalnych możliwości anaerobowych”*. Celem drugiego była *„ocena wpływu jednorazowej i 10 dniowej procedury zdalnego hartowania przez niedokrwienie kończyny dolnej na zmiany stężenia wybranych markerów stanu zapalnego w odpowiedzi na wysiłek anaerobowy”*. W celu rozwiązania problemu badawczego, Autorka sformułowała cztery pytania, które wynikały z przeprowadzonej analizy piśmiennictwa naukowego i miały między innymi wyjaśnić wpływ stosowania procedury zdalnego hartowania na maksymalne możliwości anaerobowe badanych, jak również na poziom wybranych wskaźników biochemicznych. Ponadto sformułowała cztery hipotezy badawcze, które ściśle korespondowały z postawionymi pytaniami badawczymi.

Następnie scharakteryzowała uczestników badań (N=40 zdrowych, aktywnych fizycznie mężczyzn), którzy byli rekrutowani na podstawie doboru celowego oraz bardzo rzetelnie opisała protokół realizowanego projektu badawczego, uprzednio zatwierdzonego przez Komitet Bioetyczny ds. Badań Klinicznych przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Gdańsku.

Badania zostały podzielone na cztery etapy. Podczas pierwszego uczestnicy wypełniali kwestionariusz w celu zweryfikowania poziomu aktywności fizycznej,

następnie wykonano pomiary antropometryczne oraz jednorazowe zdalne hartowanie przez niedokrwienie kończyny dolnej według protokołu Foster'a i wsp. (2014). Następnie badani wykonali 30 sekundowy test Wingate z pełnym oporem koła zamachowego w celu oceny mocy maksymalnej mięśni kończyn dolnych. W kolejnym etapie badani zostali losowo przydzieleni do równolicznych grup tj. grupy badanej (RIPC) oraz kontrolnej (SHAM), a następnie wykonano procedurę hartowania przez niedokrwienie poprzez czterokrotny ucisk kończyny dolnej za pomocą mankietu do mierzenia ciśnienia, z tą różnicą że w grupie SHAM zacisk był na poziomie 20 mmHg, a w grupie RIPC był na poziomie 220 mmHg. Przerwy między niedokrwieniem były przeplatane 5-minutowymi okresami reperfuzji. Godzinę po zakończeniu procedury badani wykonali 30-sekundowy test Wingate. Krew do badań biochemicznych była pobierana 5-krotnie, 3 razy z żyły (w spoczynku, przed procedurą RIPC; 1 godzinę po i 2 godziny po teście wysiłkowym) oraz 2-krotnie z opuszka palca (w odstępach 3 i 15 minut od wykonanej próby wysiłkowej). Po upływie tygodnia zamieniono procedurę zdalnego hartowania między obiema grupami, a krew do badań biochemicznych pobrano zgodnie ze schematem przedstawionym na rycinie 1. Trzeci etap badań przeprowadzono po upływie 2 tygodni od zakończenia drugiego. Ponownie dokonano analizy składu ciała, a następnie mężczyźni wykonali test wysiłkowy Wingate. Następnie zostali poddani 10-dniowej procedurze zdalnego hartowania z zaciskiem na poziomie 20mmHg w grupie kontrolnej i 220mmHg w grupie RIPC. Dzień po ostatniej procedurze hartowania badani wykonali test wysiłkowy. Krew do badań biochemicznych była pobierana według takiego samego schematu jak w etapie drugim. W ostatnim czwartym etapie badani zostali losowo przydzieleni do grupy badanej i kontrolnej, a następnie powtórzono jednorazową procedurę zdalnego hartowania przez niedokrwienie. Krew do badań biochemicznych pobrano przed zastosowaną procedurą oraz po upływie 1, 2 i 24 godzinie od jej zakończenia.

W kolejnym podrozdziale Autorka szczegółowo opisała zastosowane metody analizy statystycznej.

Podsumowując ten rozdział, muszę przyznać, że metodologia badań została w większości opisana klarownie, a uwagę przykuwa liczba oznaczonych cytokin. Z obowiązku recenzenta wnoszę jednak pewne zastrzeżenia do tego rozdziału. Pierwsze z nich dotyczy podrozdziału 2.6.2. pt. *„Pomiar wydolności beztlenowej kończyn dolnych”*, w którym Autorka podaje, że do *„oceny anaerobowych możliwości kończyn dolnych”* wykorzystała test Wingate, podczas gdy jest on stosowany do oceny

mocy maksymalnej mięśni kończyn dolnych i jednocześnie służy do oceny wydolności beztlenowej człowieka. Drugie zastrzeżenie dotyczy błędnego stosowania określenia „*kwask mlekowy*” zamiast „*mleczan*”. Biorąc pod uwagę własności kwasu mlekowego jako słabego kwasu organicznego ($pK_a=3,86$) i jego zachowania się w warunkach fizjologicznych w mięśniach szkieletowych ($pH=7,0$) lub krwi ($pH=7,35$) wynikającego z równania Hendersona-Hasselbalcha, kwas mlekowy występuje w formie anionu (jako mleczan) w ilości 1000-krotnie wyższej niż w formie niezdysocjowanej (jako kwas mlekowy). Kolejne zastrzeżenie dotyczy podrozdziału 2.6.3. pt. „*Analiza krwi i oznaczenia biochemiczne*”, w którym Autorka opisała procedurę oznaczenia glukozy i mleczanu. Autorka pisze: „*Glukoza i mleczan zawarte w próbce zostały przekształcone enzymatycznie za pomocą unieruchomionego enzymu oksydazy glukozowej i oksydazy mleczanowej*”. Określenie „*unieruchomiony enzym*” jest niezbyt precyzyjne, dlatego proszę o przybliżenie metodologii oznaczania wyżej wymienionych metabolitów.

Zakres i sposób przedstawienia wyników badań przedstawionych w rozdziale trzecim nie budzi zastrzeżeń. Autorka opisała je dokładnie w tekście i zilustrowała w postaci bardzo dobrze zaprojektowanych tabel i rycin.

Do oryginalnych i ważnych osiągnięć mgr Magdaleny Kochanowicz należy niewątpliwie wykazanie, że:

- 1) zastosowana procedura zdalnego hartowania przez niedokrwienie nie ma istotnego wpływu na skład ciała badanych mężczyzn,
- 2) zastosowanie wielokrotnej procedury hartowania przez niedokrwienie istotnie wpływa na poziom maksymalnych możliwości anaerobowych,
- 3) znamienny wpływ wielokrotnej procedury hartowania na stężenia angiogeniny, czynnika różnicowania wzrostu, tkankowego inhibitora metaloproteiny oraz interleukiny 6 może świadczyć o jej ochronnym wpływie na tkanki mięśni szkieletowych poddanych maksymalnemu wysiłkowi.

Dyskusja wyników uzyskanych w toku badań, podsumowanych w rozprawie, została przeprowadzona kompetentnie. Autorka przeprowadziła szczegółową analizę składu ciała oraz wydolności beztlenowej badanych mężczyzn po zdalnym hartowaniu przez niedokrwienie. Następnie obszernie przedyskutowała wyniki badań biochemicznych podkreślając przy tym „*dużą rozbieżność wyników z innymi autorami*”.

Dyskusję wyników kończy aplikacyjny wniosek, wskazujący na możliwość zastosowania zdalnego hartowania w „profilaktyce urazów w fizjoterapii” oraz w celu poprawy zdolności wysiłkowych podczas treningu sportowego.

Rozprawę doktorską kończy osiem wniosków, które stanowią odpowiedź na postawione pytania i weryfikują sformułowane hipotezy. Wnoszą one treści praktyczne i poznawcze.

Wniosek końcowy

Reasumując stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Kochanowicz pt. *„Wpływ zdalnego hartowania przez niedokrwienie kończyny dolnej na zmiany wybranych markerów stanu zapalnego indukowanych maksymalnym wysiłkiem anaerobowym”*, przygotowana pod naukową opieką Pana prof. dr hab. Jędrzeja Antosiewicza jest niewątpliwie wartościowym osiągnięciem naukowym. Autorka wykazała się bardzo dobrą znajomością teoretycznych podstaw badanych zagadnień oraz umiejętnością rozwiązywania problemów naukowych. **W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku wniosek o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Kochanowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Ewa Sadowska-Krępe