



Prof. dr hab. Michał Żmijewski,
Katedra Histologii,
Gdański Uniwersytet Medyczny,
ul. Dębinki 1a, Pokój 15
80-210 Gdańsk, Pomorskie
Polska
Tel: +48 583491455
Email: mzmijewski@gumed.edu.pl

Gdańsk, 26.05.2021

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani Katarzyny Krasowskiej

Tematem przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej **Pani Katarzyny Krasowskiej** jest: „**Wpływ suplementacji witaminą D₃ na równowagę, propriocepcję i urazowość oraz wybrane markery stanu zapalnego u młodych zawodników trenujących koszykówkę**”.

Promotor pracy: **dr hab. Jan J. Kaczor, prof. AWFIS w Gdańsku**

1) Ocena merytoryczna

a) trafność podjętej tematyki i jej oryginalność.

Witamina D od wielu lat wiązana jest z prawidłowym funkcjonowaniem naszego ciała, ze szczególnym uwzględnieniem układu kostnoszkieletowego. Dobrze poznana jest rola witaminy D w regulacji poziomu wapnia i fosforanu, a przez to prawidłowego funkcjonowania i regeneracji tkanki kostnej. Stosunkowo niewiele jednak jest badań dotyczy jej wpływu na funkcjonowanie tkanki mięśniowej, a szczególnie w kontekście koordynacji ruchowej, czy siły mięśniowej, a więc czynników niezbędnych do profesjonalnego uprawiania sportu.

Tak, więc rozprawa doktorska mgr **Katarzyny Krasowskiej** dotycząca **wpływu suplementacji witaminy D u młodych sportowców na ich własności motoryczne**, świetnie wpisuje się w nurt najnowszych badań i wychodzi naprzeciw wyzwaniom współczesnej medycyny sportowej.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska przygotowana zastała w formie monografii, w tak zwanym „starym trybem” (Rozporządzeniem MNiSW z dnia 22 września 2011 r., będącym nowelizacją art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki). Manuskrypt zawiera, 93 stron maszynopisu, w tym: 23 ryciny i 9 tabel. Niestety nie udało mi się znaleźć informacji, czy przedstawione do oceny wyniki, choć częściowo zostały opublikowane, a z pewnością są warte szerszej prezentacji w dobrym czasopiśmie.

b) ocena uzyskanych rezultatów

Rozprawa doktorska Pani mgr **Katarzyny Krasowskiej** oparta została o dobrze zaplanowane zrandomizowane badania z podwójną ślepą próbą, w których zbadano wpływ

suplementacji witaminą D na własności motoryczne oraz sprawność fizyczną młodych zawodników.

Wśród najistotniejszych wniosków wynikających z przedstawionych badań, należy wymienić:

- Wykazanie, że suplementacja przez 10 tygodni witaminą D, w ilości 3200 IU dziennie, jest wystarczająca dla zapewnienia odpowiedniego zaopatrzenia w witaminę D, u młodych sportowców
- Wykazanie, że zapewnienie optymalnego poziomu witaminy D (powyżej 30 ng/mL 25(OH)D3 w surowicy) pozytywnie wpływa na zdolność utrzymania równowagi, propriocepcję oraz obniża szansę na wystąpienie urazów.
- Wykazanie, że poprawna suplementacja witaminą D, obniża poziom miostatyny z jednoczesnym utrzymaniu stężenia IGF-1, co może sprzyjać prawidłowej regeneracji, a w przypadku młodych sportowców, przyrostu tkanki mięśniowej.

Podsumowując, przedstawione do oceny badania wskazują, że szczególnie w okresie jesienno-zimowym, prawidłowa suplementacja witaminą D jest niezbędna dla zapewnienia prawidłowego zaopatrzenia młodego organizmu, prawidłowego rozwoju fizycznego oraz ograniczenia występowania urazów związanych z aktywnym uprawianiem sportu. Co istotne, zastosowana dawka 3200 IU witamin D dziennie przez 10 tygodnie, okazała się wystarczająca do eliminacji niedoboru i uzyskania właściwej wartości (powyżej 30 ng/mL 25(OH)D3 w surowicy). Przez wiele lat szereg badań klinicznych oraz populacyjnych opierało się na zbyt niskich dawkach suplementacji (400 IU lub 800 IU), które okazywały się niewystarczające do osiągnięcia optymalnego stężenia witaminy D w surowicy. Co więcej, dane kliniczne uzyskiwane z tak zaplanowanych doświadczeń były bardzo często sprzeczne, lub wskazywały brak istotności statystycznej, pomiędzy grupą kontrolną i badawczą; co nie pozwalało na wysunięcie jakichkolwiek konkretnych wniosków.

c) poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna.

Rozprawa napisana jest poprawnie, chociaż daje się zauważyć, że praca wymagałaby jeszcze trochę pracy edytorskiej. Uważny czytelnik, może odnieść wrażenie, że część sformułowań, użytych w pracy to zbyt dosłowne tłumaczenie tekstów obcojęzycznych.

Nie jestem również przekonany, czy sformułowania: typu „sportowcy wysokiego wyczynu” (strona 24), czy tłumaczenie angielskiego „sense of resistance” na „czucie siły”, są ogólnie przyjętą terminologią biomedyczną.

Kilka innych przykładów:

- Strona 5. 25(OH)D3 – to nie cholekalcyferol, a kalcydiol.
- Strona 8. Izomer witaminy D to lumisterol, nie luminesterol.
- Strona 14. Witamina D nie jest klasycznym hormonem neurosteroidowym (wchodzącym w interakcję z receptorem GABA), jak pregnonolon. Niestety wpływ witaminy D na układ nerwowy jest nadal dość słabo poznany.

Interpunkcja, jest chyba problemem wszystkich badaczy, należy jednak zwracać uwagę na stawianie przecinków przed „czy”, „a”; w przypadku zdań wtrąconych, czy w zdaniach wielokrotnie złożonych.

Chciałbym podkreślić, że niewielkie potknięcia językowe, które wymieniłem, nie wpływają na ogólną ocenę pracy i są zrozumiałe w przypadku tak obszernego opracowania (około 100 stron).

2) Ocena metodologiczna

a) dobór literatury, umiejętności, wykorzystania źródeł

Praca mgr Katarzyny Krasowskiej zawiera ponad 100 **bardzo dobrze** dobranych odnośników literaturowych. Znaczna część cytowanych prac to prace z ostatnich 5 lat, co podkreśla aktualność poruszanej tematyki.

Z uwagi na funkcję recenzenta muszę zwrócić uwagę na drobne błędy, które jednak pojawiły się w pracy:

Strona 8 „Prowitamina D może być poddana fotokonwersji do postaci nieaktywnych takich jak: tachysterol i luminesterol, które mogą wywierać różne działania biologiczne”

Rodzi się tutaj pytanie, czy te związki są aktywne, czy nie? Proponuje zapoznać się z ostatnimi pracami Prof. Andrzeja Słomińskiego z University of Alabama w Birmingham (USA).

Strona 9,10. Pojęcie MED (ang. *minimal erythema dose*) nie zostało wprowadzone, aby rozstrzygnąć, ile witaminy D jest produkowane w skórze, ale aby określa ilość promieniowania słonecznego (lub UVB), które powoduje zaczerwienienie się skóry.

Strona 14. Koncepcja pleiotropizmu witaminy D, nie powstała, dlatego, że odkryto receptor jej receptor - VDR, ale dlatego, że od wielu lat obserwowano szereg różnorodnych efektów jej działania.

Strona 45. „Z każdej próbki surowicy krwi wykonano podwójną próbę”, być może lepiej brzmiałoby „wykonano po dwa oznaczenia. Ze statystycznego punktu widzenia należałoby wykonać raczej trzy powtórzenia.

Strona 45. „Do każdej studzienki na płytce dodano 50µl surowicy, standardu i kontroli.” Tak sformułowane zdanie sugeruje, że do każdej studzienki była dodawana zarówno: surowica, standard, jaki i kontrola.

Strona 47. Co to jest RD5-26 i RD1-17?

Wydaje się, że większość z wymienionych błędów, czy nieścisłości, wynika raczej nie z braku wiedzy doktorantki, a powstała w trakcie redagowania tekstu.

b) poprawność formułowania problemów i hipotez (założeń badawczych).

Podjęta tematyka badawcza świetnie włącza się w nurt światowych badań nad praktycznym zastosowaniem witaminy D. Problem badawczy został sformułowany poprawnie w postaci trzech celów. Głównym celem było zbadanie wpływu suplementacji witaminą D (3200 IU/dziennie przez 10 tygodni) na normalizację poziom 25(OH)D3 w surowicy. Dwa dodatkowe cele, obejmowały zbadanie efektów suplementacji na własności

motoryczne (równowagi, propriocepcji i siły mięśniowej); oraz poziom markerów stanu zapalnego i miokin. Projektem objęto grupę 30 chłopców trenujących koszykówkę, w wieku 13-15 lat, a na przeprowadzenie badań uzyskano odpowiednie zgody Niezależnej Komisji Bioetyki do Spraw Badań Naukowych (Nr NKBBN/455/2015), Dyrekcji Szkoły Podstawowej z Oddziałami Sportowymi nr 7 im. T. Kościuszki w Sopocie oraz rodziców.

Warto podkreślić, że przeprowadzone badania kliniczne aktywność ruchowej młodych sportowców, były uzupełnione o badanie dobrze dobranych markerów biochemicznych.

c) trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętność ich zastosowania.

Autorka wykorzystała szeroki wachlarz testów funkcjonalnych z wykorzystaniem profesjonalnej aparatury badawczej, w tym: badania równowagi na platformie balansowej, siły mięśniowej, propriocepcji oraz testów oceniających ryzyko urazu. Bardzo przydany jest szczegółowy opis wykonania każdej z prób funkcjonalnych, wykorzystywanej aparatury wraz z dokumentacją fotograficzną. W drugiej części pracy doktorantka wykonała szereg oznaczeń immunochemicznych z wykorzystaniem testu ELISA. Były to oznaczenia poziomu 25(OH)D₃; markery stanu zapalnego: CRP, IL-6 oraz miostatyny i IGF-1.

Z uwagi na funkcję recenzenta mam kilka pytań i uwag dotyczących metodologii oraz prezentowania wyników.

- Dlaczego czytelnik dowiaduje się dopiero stronie 31 manuskryptu, że badania wykonano na grupie chłopców (określenie zawodnicy, uczestnicy może oznaczać również grupę mieszaną)?
- Strona 30. Tytuł podrozdziału „Materiał badawczy” w odniesieniu do grupy uczniów, jest trochę niefortunny; chyba lepiej można byłoby napisać po prostu: „Charakterystyka grupy badanej”.
- Strona 31. Tabela 3, zawiera, oprócz informacji ogólnych, istotne wyniki pomiarów przed i po badaniu, w tym wyniki badań laboratoryjnych (np. PTH i wapnia), które mogłyby się równie dobrze znaleźć w rozdziale Wyniki.
- Strona 31, Tabela 3. Wydaje mi się, że do charakterystyki grupy badanej, warto byłoby dodać wzrost. Jaki był średni wzrost uczestników badań? Oczywiście, trudno przypuszczać, aby w ciągu 10 tygodni doszło do dużej zmiany tego parametru, ale taka informacja również powinna być zamieszczona.
- Strona 35. Według mnie, kryteria kwalifikacji do badań powinny być opisane przed charakterystyką grupy i opisem badań na stronie 30.
- Strony 43-48. Praca zawiera bardzo szczegółowy opis, molekularnych podstaw na których oparty jest test ELISA, jaki i poszczególnych oznaczeń. Niestety nawet tak szczegółowo przedstawiony opis, nie do końca jest przydatny do powtórzenia tych oznaczeń, gdyż nie zawiera informacji dotyczących składów buforów, stężeń ani nazw chemicznych substratów, czy użytych przeciwciał. Sam opis doświadczania powtarza się w każdym z podpunktów i zawiera te same niefortunne zwroty, których część opisałem już opisałem w swojej recenzji. Oczywiście, broniąc doktorantkę należy podkreślić, że do opisanych oznaczeń wykorzystała standardowe zestawy, których nazwy i numery katalogowe, umieszczone zostały, w podpunkcie 3.6.2.1 Pobieranie krwi. Tak, więc wystarczyłoby chyba napisać, że oznaczenia wykonano zgodnie z instrukcją producenta, zaznaczając ewentualnie modyfikacje.

- Jak doktorantka wytłumaczy, znaczne różnice, w uzyskiwanych wynikach badań, między grupą suplementowaną (SUP) i kontrolną (PL), jeszcze przed rozpoczęciem badań. Np. Tab. 6, 7, 8, 9; czy Ryc. 14.

Na zakończenie chciałbym podkreślić, że **bardzo wysoko oceniam warsztat badawczy Pani mgr Katarzyny Krasowskiej**, szczególnie, jeśli chodzi o badania sprawnościowe.

d) poprawność układu pracy i struktury podziału treści.

Praca ma klasyczny układ, zawiera dokładny spis treści, drobiazgowy spis skrótów, bardzo obszerny wstęp systematycznie wprowadzający czytelnika zarówno w tematykę witaminy D, jak również w tajniki kontroli motorycznej. Następnie, praca zawiera trzy główne cele pracy, oraz wypunktowane, pytania badawcze. Kolejny rozdział opisuje materiały i metody, a następnie umieszczone są rezultaty, dyskusja oraz spis literatury. Dodatkowo manuskrypt zawiera suplement, w którym zamieszczono kwestionariusz zgody na badania. Jestem ciekawy, czy młodzi zawodnicy lub ich opiekunowie, wypełniali również ankietę dotyczącą stanu zdrowia, odżywiania i wcześniejszej suplementacji, w szczególności witaminą D. Manuskrypt mógłby być jeszcze uzupełniony o spis rycin i tabel.

Praca jest przejrzysta, a ryciny i tabele są czytelne. Dyskusja jest ciekawa i bardzo dojrzała, co świadczy o bardzo szerokich zainteresowaniach doktorantki oraz umiejętności korzystania z literatury. Doktorantka omawia również potencjalny mechanizm oddziaływania witaminy D na tkankę mięśniową (Ryc. 22 i 23). Tak na marginesie, przy omawianiu ścieżki poza genomowej, warto zwrócić uwagę na potencjalny udział białka PDIA3.

Chciałbym podkreślić, że wszystkie sugestie i uwagi zawarte w przedstawionej recenzji, w żadnej mierze nie umniejszają dokonań doktorantki oraz wartości poznawczej prezentowanych badań, a raczej stanowią zachętę do dalszej pracy nad warsztatem badawczym oraz umiejętnością prezentacji wyników.

3) wnioski końcowe (konkluzja).

Podsumowując, monografia mgr Katarzyny Krasowskiej oparta jest o bardzo dobrze dobraną grupę badawczą, zestaw testów sprawności motorycznej, oraz oznaczeń immunochemicznych. Wyniki badań zostały dobrze opisane i zilustrowane, a dyskusja w bardzo interesujący i fachowy sposób omawia uzyskane wyniki. Szkoda tylko, że wyniki tak ważnych badań z punktu widzenia suplementacji witaminą D, nie doczekał się jeszcze publikacji. Natomiast z drugiej strony, mam nadzieję, że moje uwagi zadziałają stymulująco i przyczynią się powstania bardzo dobrego artykułu naukowego. Uważam, więc że przedstawiana do recenzji rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, dlatego też pozwalam sobie przedstawić Wysokiej Radzie Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku, wniosek o dopuszczenie Pani Katarzyny Krasowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. Michał Żmijewski

Katedra i Zakład Histologii
Gdański Uniwersytet Medyczny

Prof. dr hab. Michał Żmijewski

Gdańsk, dnia 26.05.2021