

dr hab. Miłosz Czuba prof. IS-PIB

Zakład Kinezylogii

Instytut Sportu – Państwowy Instytut Badawczy

w Warszawie

### Ocena

**Rozprawy doktorskiej mgr Olgi Marii Bugaj pt.; „Zmiany fluorescencji NADH w skórze pod wpływem wysiłku fizycznego u wysokowytrenowanych sportowców badane metodą Flow Mediated Skin Fluorescence”.**

#### Formalna struktura pracy

Dysertacja doktorska Pani mgr Olgi Bugaj powstała na podstawie badań własnych wykonanych w Katedrze Kinezylogii, Wydziału Nauk o Kulturze Fizycznej, Akademii Wychowania Fizycznego im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu. Praca ma coraz częściej spotykaną strukturę, a mianowicie zawiera monotematyczny cykl trzech opublikowanych prac. Pierwsza z prac jest o charakterze przeglądowym i ma za zadanie wprowadzić czytelnika w poruszaną tematykę badawczą, natomiast dwie pozostałe publikacje to oryginalne prace badawcze. Dysertacja uzupełniona jest również o polsko-angielskojęzyczne uzasadnienie i omówienie podjętych badań. Zaproponowana forma rozprawy wpisuje się w nowe standardy, coraz częściej praktykowane w krajowych jednostkach naukowych. Przyjęcie takiej formy rozprawy doktorskiej umożliwia prezentację osiągnięcia naukowego również na arenie międzynarodowej. Cykl publikacji został przygotowany na podstawie badań wykonanych w ramach projektu naukowego nr ANG/ZK/2/2016 będącego częścią projektu POIR.01.01.01-00-0540/15 finansowanego z Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.

Udział Pani mgr Olgi Bugaj we wszystkich pracach był dominujący i szczegółowo przedstawiony w załączonych oświadczeniach, zawierających również potwierdzenia pozostałych współautorów. Prace zostały opublikowane w czasopiśmie anglojęzycznych z listy filadelfijskiej. Pierwsza z prac wprowadzająca tematykę wykorzystywanej innowacyjnej

metody pomiarowej została opublikowana w czasopiśmie Postępy Biologii Komórki. Dwie pozostałe prace badawcze zostały opublikowane w prestiżowych anglojęzycznych periodykach o wysokiej punkcji IF tj. *Frontiers in Physiology, Applied Sciences*. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (impact factor) wg. bazy *Web of Science Core Collection* wynosi 5,833. Warto zaznaczyć, że na przeprowadzenie badań została wydana zgoda komisji bioetycznej.

### **Ocena merytoryczna**

W dysertacji opisano zmiany fluorescencji NADH, badanej za pomocą innowacyjnej metody *Flow Mediated Skin Fluorescence* u wysokowytrenowanych przedstawicieli wybranych dyscyplin sportowych, pod wpływem pojedynczego wysiłku do odmowy, a także w wyniku 7 tygodniowego treningu sportowego. W badaniach wykorzystano nowo powstałe urządzenie medyczne *AngioExpert* przeznaczone do nieinwazyjnego diagnozowania i monitorowania zaburzeń mikrokrążenia oraz regulacji metabolicznej poprzez określenie zmian poziomu fluorescencji NADH.

We wstępie Autorka zwięźle wprowadza w poruszaną problematykę badawczą tłumacząc istniejące problemy z dotychczas wykorzystywanymi inwazyjnymi metodami oceny mitochondriów, a także prezentuje alternatywną pośrednią metodę oceny funkcji mitochondrialnej, którą wykorzystywała w pracy. Poruszone zostały również kwestie adaptacji organizmu człowieka w odpowiedzi do treningu sportowego. Ponadto, Autorka wskazuje na brak badań z zakresu wpływu wysiłku i treningu fizycznego na fluorescencję NADH w skórze. Jest to niewątpliwie duży atut niniejszej pracy, ponieważ dotychczasowe badania były wykonywane jedynie w mięśniach szkieletowych w sposób inwazyjny. Ta część pracy wskazuje na dobre przygotowanie teoretyczne, jak również na wnikliwą analizę literatury z zakresu poruszanej problematyki badawczej przez Kandydatkę.

W pracy przedstawiono szczegółowy cel badań polegający na określeniu zmian intensywności fluorescencji NADH w skórze wykonanej nieinwazyjną metodą *Flow Mediated Skin Fluorescence* pod wpływem pojedynczego wysiłku do odmowy oraz po 7 tygodniowym treningu w okresie przygotowawczym u wysokowytrenowanych sportowców. Cel podjętych badań dotyczył zweryfikowania postawionych dwóch hipotez badawczych, które zostały przedstawione w pracach wchodzących do cyklu dysertacji.

Metodologia badań nie budzi większych zastrzeżeń, zarówno materiał, jak i metody badawcze zostały dobrane poprawnie do zrealizowania celu badań. Pojawiają się jednak pewne

wątpliwości rodzące pytania do części metodologicznej zawartej w 3 publikacji dotyczącej procesu treningowego, które pozwolę sobie zadać Kandydatce w dalszej części recenzji. Dużym atutem badań jest liczna grupa badawcza zarówno w pierwszej jak i drugiej publikacji. Przeprowadzona analiza statystyczna uzyskanych wyników badań została wykonana prawidłowo.

W dalszej części Kandydatka szczegółowo opisuje uzyskane wyniki badań wraz z ich omówieniem, zgodnie z kolejnością przedstawionych publikacji do cyklu dysertacji. Szczegółowo wyjaśnia sposób działania oraz sugeruje przydatność zastosowanej innowacyjnej techniki pomiarowej w diagnostyce sportowej, podpierając się najnowszymi doniesieniami z literatury międzynarodowej. W dalszej części rozdziału przedstawione zostały zmiany w metabolizmie NADH komórek skóry pod wpływem jednorazowego wysiłku wykonywanym do wyczerpania, a także po obserwowanym okresie treningowym. Badana wykazała, że wartości fluorescencji NADH bezpośrednio po wysiłku przesuwały się w kierunku wyższych wartości. Bezwzględna ilość NADH ulega podwyższeniu zarówno w trakcie niedokrwienia oraz reperfuzji powysiłkowej w porównaniu do stanu spoczynkowego. Ponadto, Kandydatka wykazała, że obserwowane zmiany w wartościach fluorescencji NADH podczas niedokrwienia i reperfuzji są silnie zależne od warunków metabolicznych i utrzymują się przez kolejne kilka minut po zakończeniu wysiłku. Należy podkreślić, że po raz pierwszy przedstawiono w literaturze zmiany fluorescencji NADH w skórze u wysokowytrenowanych sportowców pod wpływem treningu sportowego. Trening spowodował wzrost poziom fluorescencji NADH w skórze, co wydaje się spójne z wynikami wcześniejszych badań wykonywanych na mięśniach. Uważam, że wyniki te stanowią największe osiągnięcie niniejszej pracy, mimo barku jasnej odpowiedzi jakie zmiany wystąpiły w procesach metabolicznych komórek. Kandydatka uważa, że treningowy wzrost fluorescencji NADH, może sugerować wzrost puli NAD w odpowiedzi na zastosowany trening u badanych zawodników. Kandydatka kończy dyskusję sformułowaniem dwóch wniosków. Uważam, że ten rozdział został bardzo dobrze opracowany. Omówienie wyników i ich interpretacja została przeprowadzona w sposób zwięzły.

Po wnikliwej analizie przedstawionej dysertacji, nasuwają mi się dwa pytania dotyczące głównie 3 publikacji do których prosiłbym o ustosunkowanie się Kandydatki podczas obrony doktoratu.

W trzeciej pracy obserwowane były efekty potreningowe w grupie badawczej w skład której wchodził przedstawiciel następujących dyscyplin sportu: triathlon na dystansie olimpijskim (7 mężczyzn, 4 kobiety), biegi długodystansowe (na 5 km, 10 km i biegi maratońskie) (6

mężczyzn, 2 kobiety), taekwondo olimpijskie (6 mężczyzn, 1 kobieta), biegi sprinterskie (100 m, 200 m i sztafetowe 4 x 100 m) (6 mężczyzn, 1 kobieta), kajakarstwo (3 mężczyzn) i szermierkę (5 kobiet). Kandydatka połączenie wyżej wymienionych dyscyplin w jedną grupę argumentowała następująco: „Okres przygotowawczy charakteryzuje się przewagą treningów o charakterze wytrzymałościowym, niezależnie od uprawianej dyscypliny sportu”. Moim zdaniem stwierdzenie to jest błędne i być może jest efektem skrótu myślowego zastosowanego przez Autorkę. Z drugiej strony trening wytrzymałościowy charakteryzuje się bardzo szerokim spektrum zarówno objętości, jak i intensywności treningowej, uwarunkowanej nie tylko okresem treningowym, ale również uprawianą dyscypliną sporu, stażem treningowym, a także adaptacją do treningu. Czy była prowadzona rejestracja obciążeń treningowych i jakie były rozbieżności w tym zakresie podczas przebiegu badań pomiędzy reprezentantami analizowanych dyscyplin sportu (np. triathlon vs. szermierka)? Czy mogło mieć to wpływ na uzyskane wyniki?

Kolejne moje wątpliwości budzi również połączenie kobiet i mężczyzn w jedną grupę badawczą, zważywszy na fakt, że we wstępie Kandydatka pisze o czynnikach wpływających na poziom NAD. Czy możliwe jest zatem, że poziom ten może się zmieniać również podczas cyklu menstruacyjnego? Jeżeli tak, to zachodzi pytanie w jakiej fazie cyklu były badane i czy mogło mieć to wpływ na uzyskane wyniki badań.

#### **Uwagi końcowe**

Podjęte przez Kandydatę badania w rozprawie doktorskiej pt. „Zmiany fluorescencji NADH w skórze pod wpływem wysiłku fizycznego u wysokowytrenowanych sportowców badane metodą Flow Mediated Skin Fluorescence” bez wątplenia mają charakter nowatorski. Pani mgr Olga Bugaj wykazała się umiejętnością starannego pod względem merytorycznym zaplanowania badań, a także co najważniejsze podjęła się nowatorskiego kierunku badań. Przedstawiona dysertacja spełnia wymagania formalne jakie stawia się tego typu opracowaniom, tzn. spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z póź. zm.). Dlatego wnioskuję do Rady Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk o kulturze fizycznej. Ze względu na innowacyjność badań i ich znaczenie aplikacyjne wnoszę także o wyróżnienie pracy.