

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr Anny Huta-Osieckiej

pt.: „Wpływ czynników środowiskowych oraz aktywności fizycznej na poziom 25(OH)D oraz wybranych wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów u kobiet w wieku pomenopauzalnym”

Rozprawa doktorska mgr Anny Huta-Osieckiej ma charakter eksperymentalny, a tworzą ją dwie publikacje powiązane ze sobą tematycznie, które ukazały się w *PeerJ*, czasopiśmie indeksowanym przez *Journal Citation Reports* (JCR). Łączny *impact factor* tych publikacji wynosi 5.96, a liczba punktów *MNiSW* wynosi 200.

Poza 2 publikacjami, wchodzącymi w skład rozprawy doktorskiej, mgr Anna Huta-Osiecka jest współautorką 3 publikacji zamieszczonych w czasopismach indeksowanych w JCR, oraz jednej spoza JCR (Dalz i wsp. *Trends in Sport Sciences*, 2016). Wskaźnik Hirscha (według Web of Science) doktorantki wynosi obecnie 3.

Uwagi ogólne

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr Anny Huta-Osieckiej ma typowy układ przewidziany dla tematycznie powiązanych publikacji, zawiera wprowadzenie, rozdział materiał i metody, omówienie publikacji wchodzących w skład cyklu wraz z piśmiennictwem (47 pozycji), wnioski oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Do pracy dołączono kopie omawianych publikacji oraz oświadczenia współautorów publikacji o ich udziale w powstaniu ww. publikacji.

Wkład doktorantki w publikacjach zamieszczonych w cyklu (w obu mgr A. Huta-Osiecka jest pierwszą autorką) polegał na udziale w realizacji badań, gromadzeniu i analizie

wyników badań, analizie piśmiennictwa, przygotowaniu rycin i tabel, udziale w opracowaniu tekstu publikacji oraz udziale w redagowaniu odpowiedzi na recenzje.

Cykl prac przedstawiony do oceny zawiera wyniki badań a) stężenia witaminy D w surowicy krwi (tj. jej metabolitu 25(OH)D) w grupie kobiet w wieku pomenopauzalnym w okresie wrzesień *vs* grudzień jak i zależności między stężeniem 25(OH)D a budową ciała oraz metabolizmem tłuszczów i węglowodanów; b) wpływu 8-tygodniowego treningu marszowego w grupie kobiet w wieku pomenopauzalnym na skład i budowę ciała, stężenie 25(OH)D oraz metabolizm węglowodanów i tłuszczów.

Witamina D i jej stężenie we krwi odzwierciedlone stężeniem metabolitu 25 (OH)D we krwi pełni istotną rolę nie tylko w metabolizmie kości, ale zaznacza swój wpływ na przemiany węglowodanów i lipidów w organizmie człowieka. Czynniki środowiskowe tj. m.in. małe nasłonecznienie, stosowanie kremów z filtrem przeciwsłonecznym, obniżone przyjmowania witaminy D w diecie wpływają na obniżone stężenie 25(OH)D i w konsekwencji na zwiększenie ryzyka wystąpienia np. cukrzycy i chorób sercowo-naczyniowych.

We wstępie autoreferatu (str. 6-7) Doktorantka przedstawiła wyniki badań innych autorów dotyczących sezonowych zmian w stężeniu 25(OH)D we krwi (zależnych m.in. od nasłonecznienia), związku między stężeniem 25(OH)D we krwi a insulinoopornością i profilem lipidowym i podkreśliła, że w dotychczasowych badaniach nie wykazano związków korelacyjnych między sezonowymi zmianami stężenia 25(OH)D we krwi a metabolizmem węglowodanów i tłuszczów. Ponadto, Doktorantka sygnalizuje we wstępie, że zastosowanie regularnej aktywności fizycznej w formie treningu marszowego z kijkami wpływa na poprawę metabolizmu węglowodanów i tłuszczów.

W rozdziale „Cel i hipotezy badawcze” Doktorantka podkreśliła, że celem badań przedstawionych w niniejszej rozprawie będzie zbadanie wpływu sezonowych zmian w stężeniu metabolitu witaminy D (25(OH)D) na wybrane wskaźniki metabolizmu węglowodanów i tłuszczów oraz wpływu regularnej aktywności fizycznej (trening marszowy z zastosowaniem kijków) na stężenie 25(OH)D jak i na metabolizm węglowodanów i tłuszczów.

Doktorantka przedstawiła następujące hipotezy badawcze (Autoreferat, str. 9), które weryfikowała w publikacji 1:

- 1) Stężenie w surowicy krwi 25(OH)D zmniejsza się w okresie od końca września/początku października do połowy grudnia u kobiet, które w tym czasie nie przyjmują preparatów zawierających witaminę D.
- 2) Istnieje związek między sezonową zmianą stężenia w surowicy krwi 25(OH)D i stężeniem/poziomem wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów.
- 3) Zmiany stężenia w surowicy krwi 25(OH)D zależne są od masy ciała.

Z kolei hipotezy badawcze dotyczące wpływu aktywności fizycznej na metabolizm węglowodanów i tłuszczu brzmiały:

- 4) Udział kobiet po menopauzie w systematycznych zajęciach Nordic walking modyfikuje stężenie/poziom wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów oraz liczbę białych krwinek i ich subpopulacji.
- 5) Stopień modyfikacji poziomu badanych wskaźników metabolicznych związany jest z rodzajem stosowanych kijów, NW i RSA, które różnicują obciążenia wysiłkiem fizycznym.
- 6) W okresie badań (zima, luty - kwiecień) nie wystąpią zmiany w stężeniu 25(OH)D w surowicy krwi.
- 7) Stężenie w surowicy krwi 25(OH)D, oznaczone przed przystąpieniem do programu treningowego, oraz wybrane cechy somatyczne determinują odpowiedź ocenianych wskaźników metabolicznych na zastosowaną aktywność fizyczną.

Publikacja 1

Celem badań przedstawionych w pierwszej publikacji autorstwa **Huta-Osiecka A.**, Wochna K., Kasprzak Z., Nowak A. pt.: *"Seasonal variation of 25- hydroxyvitamin D and indices of carbohydrate and lipid metabolism in postmenopausal women"* (PeerJ 2021, 9:e11341, doi: 10.7717/peerj.11341, Impact Factor - 2,98; punktacja MEiN - 100 pkt, liczba cytowań 2) było określenie wpływu zmian sezonowych (wrzesień vs grudzień) na stężenie metabolitu witaminy D w surowicy krwi tj. 25(OH)D oraz wpływu zmian 25(OH)D na metabolizm węglowodanów (mierzony stężeniem glukozy, insuliny i wskaźnikiem HOMA-IR), metabolizm lipidów (profil lipidowy krwi) oraz metabolizm kości (sklerostyna, PTH) w grupie kobiet (n=16) w wieku pomenopauzalnym (średnia wieku 62 ± 4.8 lat). Uczestniczki badań w



okresie obserwacji nie przyjmowały preparatów zawierających witaminę D, deklarowały również brak istotnych zmian w trybie życia w okresie badań.

Doktorantka, na podstawie przeprowadzonych badań potwierdziła, że w grupie kobiet w wieku pomenopauzalnym dochodzi do: a) zmniejszenia stężenia 25(OH)D w okresie interwencji (wrzesień *vs* grudzień). Jednakże, paradoksalnie, zmniejszeniu stężenia 25(OH)D w okresie wrzesień/ grudzień towarzyszył wzrost insulinowrażliwości, oceniany na podstawie zmiany wskaźnika HOMA-IR. Nie obserwowano zmian w budowie ciała (BMI, ilości tłuszczu, procentowej zawartości tłuszczu w masie ciała), profilu lipidowym krwi, stężeniu glukozy, parathormonu i sklerostyny w badanej grupie kobiet (n=16). W badanej grupie kobiet (n=16) nie wykazano zależności korelacyjnej między spadkiem 25(OH)D w okresie wrzesień/grudzień (Δ 25(OH)D) a zmianami (Δ) a) wskaźników otłuszczenia ciała (BMI, masa tłuszczu i procentowa zawartość tłuszczu w masie ciała); b) biochemicznymi wskaźnikami odzwierciedlającymi metabolizm węglowodanów, tłuszczów. Wykazano jednakże inne zależności np. między zmianami w cholesterolu całkowitym a zmianą insuliny oraz glukozy i sklerostyny (korelacje pozytywne). W pracy przedstawiono ponadto wyniki porównań parametrów antropometrycznych i biochemicznych w badanej grupie kobiet (n=16) po przydzieleniu ich do grupy A o prawidłowym BMI (n=10) oraz do grupy B o podwyższonym BMI (n=6). Po podziale kobiet (ze względu na budowę ciała) uczestniczących w badaniu na podgrupy A i B nie wykazano istotnych różnic między badanymi wskaźnikami biochemicznymi (oprócz niższego stężenia glukozy w obu terminach badań w grupie kobiet o niższym BMI, czyli w grupie A w porównaniu do B) ani w I ani w II terminie badań. Wykazano natomiast, że w obu grupach (A i B) podobnie jak w grupie bez podziału (n=16) następował spadek 25(OH)D w surowicy w grudniu w stosunku do września (18% w grupie A i 23% w grupie B). W obu grupach doszło również do spadku (choć nieistotnego, *vide* Tabela 2, publikacja 1, str. 6/14) HOMA-IR, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi w grupie n=16 kobiet.. Zatem, uwzględnienie różnic w budowie ciała (różnice w masie ciała, BMI i masie tłuszczu) nie skutkowało uzyskaniem oczekiwanych odpowiedzi na postawione hipotezy badawcze, tj. nie stwierdzono zależności między zmianą stężenia 25(OH)D a budową ciała (*hipoteza 3*).

Zatem podsumowując, w pracy wykazano sezonowy spadek metabolitu witaminy D w surowicy krwi (25(OH)D) w grupie kobiet w wieku pomenopauzalnym (n=16) (*hipoteza 1*),

któremu, co ciekawe, towarzyszył wzrost insulino-wrażliwości (mierzony spadkiem HOMA-IR) i brak zmian w stężeniu badanych lipidów krwi oraz czynników wpływających na metabolizm kości (parathormon i sklerostyna). Nie potwierdzono natomiast zależności korelacyjnych między spadkiem 25(OH)D a składem ciała i badanymi wskaźnikami biochemicznym (ocenionymi przed przystąpieniem do badań, I termin badań) (*hipoteza 2*), stąd wnioskowano, iż wzrost insulino-wrażliwości w wymienionym okresie mógł być związany z czynnikami środowiskowymi (np. zachowania żywieniowe tj. zmiany przyjmowania pokarmów w okresie przedświątecznym).

Publikacja 1- uwagi:

1. W badaniach wzięła udział mało liczna grupa kobiet (n=16), co mogło mieć wpływ na uzyskane wyniki.
2. Przedstawione wyniki korelacji w podgrupach (osobno dla grupy A i osobno w grupie B) należy traktować z ostrożnością w związku z małą liczbą kobiet w obu grupach (grupa A n=10, a grupa B n=6) i małym zakresie zmienności masy ciała. Wykres 2, str. 7/14 wskazuje na dużą niejednorodność wyników .
3. W kolejnych badaniach należałoby zwiększyć liczebność badanej grupy, aby móc przybliżyć uzyskane wyniki do norm populacyjnych. Ponadto należałoby wydłużyć okres obserwacji (np. styczeń/luty), aby usunąć wpływ potencjalnych czynników (niekontrolowana dieta) na badane zjawisko.

Publikacja 2

Celem publikacji 2 autorstwa **Huta-Osiecka A., Wochna K., Stemplewski R., Marciniak K., Podgórski T., Kasprzak Z., Leszczyński P., Nowak A.** 2022. „*Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women.*” (PeerJ 2022; 10:e13643 <https://doi.org/10.7717/peerj.13643>, Impact Factor - 2,98; punktacja MEiN - 100 pkt, liczba cytowań = 0) było określenie wpływu 8-tygodniowego treningu marszowego (Nordic Walking) z zastosowaniem kijów klasycznych (grupa NW) i kijów z zintegrowanym elementem oporowym (4kg, grupa RSA) na metabolizm węglowodanów i lipidów w grupie kobiet w wieku pomenopauzalnym. Programowi treningowemu (w okresie od lutego do kwietnia) poddano 40 kobiet w wieku pomenopauzalnym, które losowo przydzielono do dwóch grup tj. do grupy NW i RSA. Ostatecznie w publikacji przedstawiono wyniki badań n=23 kobiet tj. 15

z grupy NW oraz 8 z grupy RSA. Sesje treningowe odbywały się 2 razy w tygodniu (n=16 sesji treningowych) i były złożone z: a) 10-15 min rozgrzewki, b) treningu marszowego właściwego (dystans maksymalny 3.5- 4.5 km, z czego połowa dystansu tj. 1.7-2.2 km w tempie 1 km na 10 minut tj. 100 metrów/min czyli w tempie nieco wyższym niż typowe dla młodych, zdrowych osób), c) ćwiczeń rozciągających i ćwiczeń równowagi na koniec sesji treningowej (15 min). Intensywność wysiłku marszowego była dobrana na podstawie HRR tj. wynosiła 50%HRR (sesje treningowe 1-8) oraz 65-70% HRR (podczas sesji treningowych 9-16). Przed i po programie treningowym w badanej grupie wykonano pomiary antropometryczne (m.in. składu ciała metodą DXA), badania krwi (lipidogram, glukoza, insulina, leukocytoza z rozmazem).

W badaniach wykazano (n=23, Tabela 1), że 16 sesji treningu marszowego skutkowało (dane na podstawie publikacji 2) spadkiem stężenia insuliny (Tabela 1 $p<0.01$; Results $p=0.0036$), obniżeniem wskaźnika HOMA-IR (Tabela 1 $p<0.054$; Results $p=0.01$) bez zmiany stężenia glukozy we krwi. Doszło również obniżenia stężenia cholesterolu całkowitego (Tabela 1, $p<0.054$; Results $p=0.01$) i triacylogliceroli (Tabela 1 $p<0.054$; Results $p=0.0455$), podczas gdy cholesterol LDL i HDL nie uległ zmianie. Zaobserwowano zmniejszenie leukocytozy (Tabela 1 $p<0.01$; Results $p=0.0001$), co było skutkiem obniżenia liczby limfocytów (Tabela 1 $p<0.01$; Results $p=0.0055$), monocytów (Results, $p<0.001$) oraz granulocytów (Tabela 1 $p<0.054$; Results $p=0.0152$). W badaniach wykazano ponadto, (n=23, Tabela 1), że trening zwiększył masę ciała (Tabela 1 $p<0.054$; Results $p=0.0153$) zatem również BMI (Tabela 1 $p<0.001$; Results $p=0.0099$); zmniejszył masę tłuszczu w wielkościach bezwzględnych (kg) (Tabela 1 $p<0.054$; Results $p=0.0371$) jak i procentową zawartość tłuszczu w masie ciała (Tabela 1 $p<0.054$; Results $p=0.0169$). Zatem hipoteza o wpływie treningu marszowego na insulinowrażliwość (obniżenie HOMA-IR) i poprawę profilu lipidowego we krwi (spadek stężenia TC i TG) w grupie kobiet w wieku pomenopauzalnym została potwierdzona (*hipoteza 4*). Dodatkowo zaobserwowano korzystny wpływ treningu na obniżenie stanu zapalnego, odzwierciedlonego spadkiem leukocytozy. Zaznaczyć należy, że nie jest to odkrycie nowe, lecz potwierdza wyniki prac wcześniejszych. W badanym okresie (luty/kwiecień, ograniczone nasłonecznienie) nie stwierdzono istotnych zmian w stężeniu 25(OH)D (n=23), co wskazuje na brak wpływu zastosowanego treningu na stężenie witaminy D w okresie braku zmian w nasłonecznieniu (*hipoteza 6*). Ponadto, nie stwierdzono zależności między budową ciała (masa ciała, BMI, masa

tłuszczu) a przed-treningowym stężeniem 25(OH)D we krwi jak i zmianą pod wpływem treningu (Δ : pre vs post) profilu lipidowego krwi (Δ TC, Δ TG, Δ LDL, Δ HDL), insulinoopornością (Δ HOMA-IR) (*hipoteza 7*). Zatem, jak słusznie zauważa Doktorantka (Autoreferat str. 27) poprawa insulinooporności i profilu lipidowego nastąpiła w wyniku zastosowanego treningu marszowego i nie miała związku ze zmianami 25(OH)D w surowicy krwi.

Po uwzględnieniu rodzaju zastosowanego treningu marszowego w analizie (grupa NW i RSA) nie wykazano różnic pomiędzy grupami NW i RSA w zakresie analizowanych zmiennych zarówno przed jak i po treningu (m.in. budowa ciała, 25(OH)D, insulinooporność, profil lipidowy, leukocytoza). W grupie RSA zaobserwowano istotne zmniejszenie masy tłuszczu (mierzonej metodą DXA) (z ~27.3 do 26.3 kg), podczas gdy w grupie NW zmniejszenie masy tłuszczu było nieistotne (Tabela 2, str. 8/19). Zmniejszenie masy tłuszczu po treningu w grupie RSA było połączone z poprawą insulinooporności jak i z obniżeniem stężenia triacylogliceroli, podczas gdy w grupie NW nie obserwowano zmian insulinooporności, ani profilu lipidowego. Zatem zarówno zmiany w budowie ciała (spadek masy tłuszczu) i poprawa insulinooporności oraz profilu lipidowego pod wpływem 8-tygodniowego treningu marszowego obserwowane w grupie n = 23 kobiet w wieku pomenopauzalnym, były wynikiem istotnych zmian tych wskaźników w grupie kobiet ćwiczących z użyciem kijków z oporem (grupa RSA) (*hipoteza 5*). Z kolei, 8-tygodniowy trening marszowy w grupie NW (tj. z kijkami bez oporu) wywołał zmiany w morfologii krwinek białych tj. doszło do istotnego spadku leukocytozy po 8 tygodniach treningu, a w rozmazie krwinek białek obserwowano spadek liczby zarówno limfocytów, monocytów jak i granulocytów. Nie obserwowano żadnych zmian w stężeniu 25(OH)D w obu grupach (RSW i NW) pod wpływem treningu w badanej grupie kobiet.

Publikacja 2- uwagi:

1. W porównaniu do publikacji 1, w publikacji 2 zastosowano bardziej zaawansowane metody badania składu ciała, tj. DXA. Przy zastosowaniu tej metody można zobrazować nie tylko tłuszcz ustrojowy, ale kości i tkanki miękkie. Zatem w pracy tej nie wykorzystano pełnych walorów diagnostycznych użytej metody.
2. W publikacji zabrakło danych na temat zmiany wskaźników wydolności fizycznej badanych osób pod wpływem 8-tygodniowego treningu.

3. W opisie metod statystycznych zaznaczono, iż „*statistical significance was set at an alpha of 0.05 for all statistical procedures*” (str. 6/19). Zatem mylące jest przedstawienie danych w Tabeli 1 (str. 7/19), gdzie w opisie Tabeli znajdujemy cytując: „*An asterix (*) indicates $p < 0.054$* ”. Oznacza to, że tym symbolem w tabeli zaznaczona (*) może być również różnica nieistotna statystycznie.

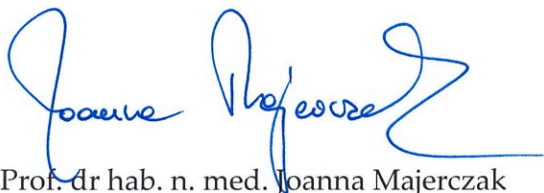
Autoreferat- uwagi ogólne:

1. **Wstęp:** znaczenie aktywności fizycznej jak i jej wpływu na wydolność fizyczną, czynniki ryzyka chorób cywilizacyjnych powinny być we wstępie rozprawy przedstawione szerzej i podobnie jak w publikacjach.
2. **Metodyka:** opis metod statystycznych w autoreferacie powinien być bardziej szczegółowy. O ile w publikacjach nie jest to niezbędne (choć ostatnio coraz częściej stosowane) w autoreferacie należałoby przedstawić dokładniejszy opis zastosowanych metod statystycznych ze wskazaniem tych zmiennych, których rozkład odbiegał od normalnego i w związku z tym w analizie statystycznej należało użyć statystyk nieparametrycznych. Ze względu na fakt, że liczba analizowanych zmiennych nie jest duża taki zabieg ułatwiłby Czytelnikowi/Recenzentowi zapoznanie się z danymi. Wnioskuje, aby kluczowe dane, które będą przedstawiane w czasie obrony pracy doktorskiej, zawierały informacje na temat zastosowanej metody statystycznej z podaniem wielkości p (liczbowo, *vide* uwaga 3 publikacja 2).
3. **Metodyka:** w autoreferacie zabrakło opisu doboru intensywności treningowych, stosowanych w czasie sesji treningowych, który to opis zawiera publikacja 2.
4. **Wyniki:** Sposób przedstawienia wyników analizy korelacyjnej (tj. w tekście autoreferatu i w tekście publikacji) jest nieprzejrzysty i utrudnia wnioskowanie na ich podstawie o istniejących lub nie zależnościach pomiędzy analizowanymi zmiennymi w badanej grupie. Zależności korelacyjne (zwłaszcza te istotne i potem omawiane w dyskusji) winny być przedstawione na rycinach lub w tabelach.
5. **Drobne uchybienia edytorskie:** występujące podwójne spacje (np. str. 17) lub puste nawiasy (str. 16).

Podsumowanie

Rozprawa doktorska mgr Anny Huta-Osieckiej pt” „Wpływ czynników środowiskowych oraz aktywności fizycznej na poziom 25(OH)D oraz wybranych wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów u kobiet w wieku pomenopauzalnym” oparta o 2 publikacje zamieszczone w czasopiśmie *PeerJ* indeksowanym w JCR o łącznym *impact factor* wynoszącym 5.96 (tj. 200 pkt MNiSW) zarówno w aspekcie merytorycznym jak i redakcyjnym spełnia kryteria i wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Doceniając fakt opublikowania 2 oryginalnych prac w czasopiśmie indeksowanym w JCR, z obowiązku Recenzenta, zamieściłam powyżej kilka szczegółowych uwag dotyczących obu publikacji oraz autoreferatu, które mogą być przydatne w planowaniu kolejnych badań i analiz.

Reasumując, zgodnie z art. 187 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018 r., poz. 1668), wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego w Poznaniu o dopuszczenie mgr Anny Huta-Osieckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. n. med. Joanna Majerczak

Kraków, 8. 09. 2022 r.