

dr hab. Ewa Ziemann, prof. AWFIS

Kazimierza Górskiego 1, 80-336 Gdańsk,  
e-mail: ziemann.ewa@gmail.com

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Michała Włodarczyka pt.:**

**„Zmiany osoczowego stężenia wskaźników rozpadu ATP pod wpływem wysiłku u wysoko wytrenowanych sportowców”**

**Promotorem dysertacji, którą stanowi monotematyczny cykl publikacji jest Prof. AWF dr hab. Jacek Zieliński w Poznaniu. Opinię sporządzono w oparciu o uchwałę Rady Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego AWF Poznań z dnia 5 listopada 2019**

Rozprawę doktorską mgr Michała Włodarczyka stanowią dwie publikacje przygotowane na podstawie badań wykonanych w ramach realizacji projektu naukowego nr 2013/09/B/NZ7/02556, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

1. ***Changes in blood concentration of adenosine triphosphate metabolism biomarkers during incremental exercise in highly trained athletes of different sport specializations***, Journal of Strength and Conditioning Research 33(5)/1192–1200, 2019 – impact factor - 3.017, punktacja ministerstwa – 100 pkt.
2. ***Change in lactate, ammonia and hypoxanthine concentrations in a 1-year training cycle in highly trained athletes: applying biomarkers as tools to assess training status***, Journal of Strength and Conditioning Research. August 29, 2019 - Volume Publish Ahead of Print doi: 10.1519/JSC.0000000000003375 – impact factor - 3.017, punktacja ministerstwa – 100 pkt.

Łączny współczynnik oddziaływania opublikowanych prac wynosi 6.034, a mgr Włodarczyk jest ich pierwszym autorem. Oświadczenia współautorów potwierdzają udział Kandydata na stopień doktora na każdym etapie powstawania pracy, tj przeprowadzeniu badań, zebraniu i zabezpieczeniu materiału biologicznego, analizie wyników badań, ich graficznym oraz statystycznym opracowaniu oraz napisaniu manuskryptu. Obie prace wchodzące w skład cyklu mają czterech, tych samych współautorów, co w żaden sposób nie umniejsza doktorantowi, gdyż obie prace są pracami eksperymentalnymi, których jak wiadomo, nie można przeprowadzić indywidualnie. Czasopismo *Journal of Strength and Conditioning*

*Research* należy do najbardziej prestiżowych czasopism w dyscyplinie *kultury fizycznej i sport science*. Cieszy się szczególnym autorytetem i pełni ważną rolę opiniotwórczą w środowisku trenerskim, a pozycja na Liście Filadelfijskiej potwierdza jego poziom naukowy. Obie prace przeszły z powodzeniem proces submitingu, zostały zaakceptowane po niezależnych opiniach recenzentów (min 2, max 4) oraz edytora, prawdopodobnie również konieczność odpowiadania na uwagi recenzentów. Uważam to za niezwykle ważne doświadczenie naukowe dla Kandydata na stopień doktora, które wyraźnie wskazuje właściwą drogę awansu zawodowego i będzie miało wpływ na rozwój Jego kariery naukowej.

Autor w swojej dysertacji podjął się próby poszukiwania nowych markerów obciążenia fizycznego wykorzystywanych w sporcie wysokokwalifikowanym. Skupia się na kompleksowej ocenie wzajemnych relacji między poszczególnymi wskaźnikami oraz dynamice ich zmian, zarówno w trakcie jak i po wysiłku u zawodników różnych dyscyplin sportowych. W pierwszej pracy analizuje zmianę wskaźników w odpowiedzi na przeprowadzony test o wzrastającej intensywności, natomiast w drugiej pracy zestawia i analizuje wyniki uzyskane w tej samej procedurze badawczej, ale powtórzone kilkakrotnie w rocznym cyklu treningowym. Jest to trudne zadanie, gdyż z jednej strony należało sięgnąć po zaawansowane metody w określeniu zmian wskaźników krwi w odpowiedzi na standardowy test wysiłkowy, czego wymaga aspekt nowatorski i oryginalny dysertacji doktorskiej, a z drugiej strony współpraca ze środowiskiem trenerskim często „żąda” szybkiego przekazu danych tak, aby można było je wykorzystać na bieżąco w szkoleniu zawodników. Natomiast opanowanie nowych technik badawczych wymaga czasu i precyzji. Dlatego też połączenie tych wszystkich wymagań w tej pracy naukowej przez Kandydata z pewnością zasługuje na uznanie. Zbadanie zawodników w rocznym cyklu treningowym różnych dyscyplin sportowych, czyli utrzymanie dyscypliny badawczej w tak różnym środowisku, potwierdza również, że taki kompromis został osiągnięty.

Celem przeprowadzonych badań było określenie zmian w stężeniu biomarkerów metabolizmu ATP we krwi, podczas stopniowanego wysiłku oraz w fazie restytucji, u sportowców o odmiennym profilu treningowym, różnej masie mięśniowej (publikacja 1) w rocznym cyklu treningowym (publikacja 2). Autor skoncentrował się na zmianach mleczanu, amoniaku (LA, NH<sub>3</sub>) i metabolitów puryn. Przyjął następujące hipotezy badawcze:

- (a) wyspecjalizowany trening sportowy (szybkościowo-siłowy, wytrzymałościowy, mieszany) powoduje odmienne adaptacje prowadzące do specyficznej dynamiki uwalniania biomarkerów do krwi podczas standardowego wysiłku oraz w okresie powysiłkowej restytucji,
- (b) wyższa masa mięśniowa będzie powodować zwiększone uwalnianie analizowanych

biomarkerów.

- (c) w rocznym cyklu treningowym zmienia się dynamika uwalniania biomarkerów do krwi podczas standardowego wysiłku oraz w okresie powysiłkowej restytucji.

W celu przeprowadzenia badań oraz weryfikacji hipotez badawczych Doktorant zastosował standardowy test o wzrastającej intensywności. Jednakże, to co wyróżnia te badania to pobór krwi podczas wysiłku z żyły łokciowej (tradycyjnie podczas wysiłku pobierana jest krew kapilarna), wykorzystanie do oceny antropometrycznej metody dwuenergetycznej absorpcjometrii rentgenowskiej (DXA) oraz wysokosprawnej chromatografii cieczerwowej (HPLC) z detekcją w ultrafiolecie do określenia zmian metabolitów puryn (hipoksantyny, ksantyny, kwasu moczowego). Zastosowanie tak wysokiej jakości metod badawczych czynni uzyskane wyniki wartościowymi i wiarygodnymi.

W pierwszej pracy w badaniach wzięli udział sprinterzy (SP, N=11) specjalizujący się w biegu na 100m i 200m, w wieku  $24.2 \pm 3.2$  lat, stażu treningowym  $8.5 \pm 2.5$  lat, sportowcy wytrzymałościowi (EN, n=16) w skład których zaliczono triatlonistów i biegaczy długodystansowych, w wieku  $23.4 \pm 3.6$  lat, stażu treningowym  $8.7 \pm 1.9$  lat, futsaliści (FU, n=12) w wieku  $24.5 \pm 3.8$  lat, stażu treningowym  $10.0 \pm 3.4$  lat oraz biegacze amatorzy (AM, n=12) stanowiący grupę kontrolną. Dobór grup badawczych był więc prawidłowy zarówno ze względu na wiek jak i podobny staż treningowy. Wszystkie grupy badawcze zostały poddane tej samej procedurze badań.

Uzyskane wyniki wykazały, iż profil treningowy, a tym samym zmiany adaptacyjne determinują wzorzec zmian oraz poziom stężenia biomarkerów w odpowiedzi na wykonywany wysiłek. Najniższe stężenie puryn odnotowane w grupie sprinterów może wskazywać, iż szlaki metaboliczne resyntezy ATP: fosfokreatynowy oraz glikolityczny, dominujące w dyscyplinach sprinterskich o intensywności powyżej progu przemian anaerobowych zapewniają utrzymanie właściwej równowagi między procesem hydrolizy, a resyntezy adenozy-5'-trifosforanu (ATP). Co ciekawe masa mięśni szkieletowych nie korelowała ze stężeniem badanych biomarkerów, co może potwierdzać fakt, iż nie wielkość mięśni, lecz tzw. „sprawność metaboliczna” ma bardziej istotne znaczenie w procesie treningowym. W grupie osób trenujących dyscypliny o charakterze wytrzymałościowym odnotowano najniższe stężenie amoniaku zarówno w spoczynku, podczas wysiłku o wzrastającej intensywności oraz w okresie restytucji powysiłkowej. Ze względu na fakt, iż  $\text{NH}_3$  można wykorzystać jako pośredni wskaźnik utraty ATP w mięśniu podczas wysiłku, określanie jego stężenia może być wykorzystywane do określania, monitorowania i planowania intensywności wysiłku podczas testów wysiłkowych oraz planowaniu rocznego cyklu treningowego.

Za szczególnie wartościowe uznaję wskazówki praktyczne przedstawione w tej

publikacji. Doktorant wskazuje, iż pomiary stężenia LA, NH<sub>3</sub>, i Hx we krwi pośrednio dostarczają informacji o reakcji wysiłkowej i statusie energetycznym bez potrzeby stosowania inwazyjnych metod takich jak biopsja mięśniowa. Jednocześnie wyjaśnia jakie mogą mieć znaczenie i zastosowanie w zależności od profilu treningu.

W drugiej opublikowanej pracy wzięły udział podobne grupy sportowe tj.: sprinterzy (SP, n=12) triathloniści (TR, n=11) futsaliści (FU, n=12) oraz biegacze amatorzy (AM, n=12) stanowiący grupę kontrolną. Zarówno dobór grup jak i procedura była wystandaryzowana i poprawna. Badania powtórzono czterokrotnie w poszczególnych fazach rocznego cyklu treningowego. Dodatkową, z punktu widzenia trenerskiego, wartość publikacji stanowi szczegółowa charakterystyka obciążeń treningowych: ilość jednostek treningowych, czas, zakresy energetyczne (wszystkie niezbędne informacje).

Uzyskane wyniki wykazały, iż największe różnice w stężeniu biomarkerów pomiędzy poszczególnymi fazami treningu dla wszystkich grup sportowych zaobserwowano dla hipoksantyny (Hx) na poziomie maksymalnej intensywności wysiłku oraz podczas regeneracji. Największe różnice dla NH<sub>3</sub> między poszczególnymi fazami treningowymi dla wszystkich grup badawczych zostały osiągnięte przy osiągnięciu maksymalnej intensywności wysiłku. Co ciekawe, iż największe różnice w stężeniu mleczanu (LA) między fazami treningu odnotowano na początkowych etapach testu wysiłkowego we wszystkich grupach sportowych, co jest zaskoczeniem szczególnie dla grup sprinterów.

Przeprowadzone prace eksperymentalne umożliwiły sformułowanie Doktorantowi następujących wniosków:

- ✓ Stężenia LA, NH<sub>3</sub> i Hx ulegają zmianie w rocznym cyklu treningowym, w zależności od typu treningu oraz wielkości obciążeń treningowych zastosowanych w różnych okresach cyklu.
- ✓ Nie stwierdzono związku pomiędzy masą mięśni szkieletowych a stężeniem biomarkerów.
- ✓ Łączny pomiar stężenia LA, NH<sub>3</sub> i Hx we krwi może w pośredni sposób odzwierciedlać zmiany w statusie energetycznym mięśni wywołanych wysiłkiem i treningiem.
- ✓ Zmiany stężeń NH<sub>3</sub> i Hx są bardziej wrażliwe w porównaniu do LA na zmiany statusu treningowego ocenianego testem wysiłkowym w długich cyklach treningowych.

Z obowiązku recenzenta pozwolę sobie na kilka uwag krytycznych:

- 1) Żałuję, iż w autoreferacie Doktorant nie omówił bardziej szczegółowo metabolizmu mleczanu, który jest uważany w środowisku trenerskim za najlepszy marker intensywności wysiłku i wielkości zmęczenia. Brak zrozumienia przez trenerów jego metabolizmu kładzie często cień na interpretację osiągniętych wyników. Jest to

zagadnienie opisane w drugiej publikacji, więc proszę o wyjaśnienie podczas publicznej obrony.

- 2) Najmniejszą moją akceptację wzbudziła hipoteza „c”, gdyż wskazanie, że roczny cykl treningowy zmieni dynamikę uwalniania biomarkerów, jest stwierdzeniem zbyt ogólnikowym. Szkoda, iż Autor nie pokusił się o doprecyzowanie określenia kierunku tych zmian na początku badań.
- 3) Czy Doktorant sprawdził istnienie jakiegokolwiek zależności między screeningowymi metodami oznaczania wymienionych biomarkerów, a uzyskanymi wynikami (jak zastąpić te wysublimowane metody, prostymi pomiarami- z pewnością usłyszy takie pytanie od trenerów).

Uwagi te w żadnym stopniu nie zmieniają mojej oceny opublikowanych prac. Uważam, iż tylko taki sposób publikowania wyników badań, daje możliwości: rozwoju zarówno młodego pracownika naukowego jak i uczelni oraz nawiązywania kontaktów współpracy z ośrodkami zagranicznymi oraz własnej pozycji międzynarodowej. Prowadzenie prac doktorskich w ten sposób nie tylko jest wyjątkowe, ale wychodzi naprzeciw wymaganiom stawianym naszemu środowisku tj. międzynarodowej konkurencji. Dlatego też, podsumowując, uważam, że rozprawa doktorska mgr Michała Włodarczyka spełnia wymogi stawiane pracom na stopień doktora w dyscyplinie nauk o kulturze fizycznej. Wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Akademii Wydziału Wychowania Fizycznego w Poznaniu o nadanie toku dalszym etapom przewodu doktorskiego. **Jednocześnie biorąc pod uwagę fakt, iż opublikowane prace stanowią duże osiągnięcie naukowe o zasięgu międzynarodowym, mają istotny wpływ na ocenę parametryczną uczelni, wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej o wyróżnienie pracy mgr Michała Włodarczyka.**

dr hab. Ewa Ziemann

*Ziemann Ewa*