

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ WYKONANA NA ZAMÓWIENIE AKADEMII WYCHOWANIA FIZYCZNEGO IM. EUGENIUSZA PIASECKIEGO W POZNANIU

Doktorantka:

Mgr: Justyna Cichoń-Woźniak

Tytuł rozprawy doktorskiej:

Wpływ dwutygodniowego aktywnego okresu odpoczynku na markery równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej na tle parametrów stanu zapalnego oraz metabolizmu żelaza u koszykarek

Promotor:

prof. dr hab. Anna Skarpańska-Stjenborn

Recenzent

dr hab. prof. IS-PIB Jadwiga Malczewska-Lenczowska

1. Przedmiot rozprawy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w formie tematycznie spójnego cyklu dwóch oryginalnych publikacji naukowych. Dotyczą one wpływu pojedynczego wysiłku fizycznego na wskaźniki: statusu oksydacyjno-antyoksydacyjnego, stanu zapalnego oraz metabolizmu żelaza bezpośrednio po wysiłku oraz po 3 godzinach restytucji u koszykarek po zastosowaniu 2-tygodniowego okresu aktywnego odpoczynku.

Problematyka równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej u sportowców wyczynowych ma charakter złożony i wieloczynnikowy. Intensywny trening oraz udział w zawodach sprzyjają zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu i azotu (ROS/RONS), co w konsekwencji może prowadzić do rozwoju stresu oksydacyjnego, uszkodzeń struktur komórkowych, nasilonego zmęczenia i w efekcie obniżenia zdolności wysiłkowych organizmu. Jednocześnie u sportowców wyczynowych obserwuje się adaptacyjne mechanizmy ochronne, obejmujące m.in. wzrost aktywności enzymatycznych i nieenzymatycznych systemów antyoksydacyjnych oraz modyfikację metabolizmu redoks, które mogą częściowo chronić organizm przed skutkami powtarzanych obciążeń wysiłkowych.

Dotychczasowe wyniki badań nie są jednoznaczne w zakresie wpływu rodzaju dyscypliny sportowej oraz struktury obciążeń treningowych na markery stresu oksydacyjnego i całkowitą zdolność antyoksydacyjną organizmu. Szczególnie istotna pozostaje kwestia ryzyka przewlekłych zaburzeń równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w trakcie długotrwałych okresów intensywnego treningu i startów, co ma kluczowe znaczenie nie tylko dla adaptacji treningowych, lecz również dla skutecznej regeneracji powysiłkowej.

Na tym tle za oryginalne i uzasadnione należy uznać kompleksowe ujęcie problemu, obejmujące jednocześnie ocenę wskaźników stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego oraz metabolizmu żelaza. Powysiłkowy stan zapalny stymuluje bowiem w organizmie procesy antyoksydacyjne, żelazo natomiast jest pierwiastkiem o dwojakim działaniu, wchodząc w skład enzymów, takich jak katalaza może pełnić funkcję antyoksydacyjną, natomiast w sytuacji nadmiaru wolnych jego jonów, żelazo może działać prooksydacyjnie, sprzyjając powstawaniu niezwykle aktywnego rodnika hydroksylowego. Z kolei białka regulujące gospodarkę żelazem (ferrytyna, transferyna, hepcydyna, laktoferyna) odgrywają kluczową rolę w ograniczaniu jego potencjału utleniającego, poprzez kontrolę dostępności wolnych jonów żelaza na poziomie komórkowym. W dostępnym piśmiennictwie zagadnienia te zazwyczaj analizowane są w sposób fragmentaryczny, co dodatkowo podkreśla wartość przyjętej przez Doktorantkę koncepcji badawczej.

Wybór do badań okresu aktywnego odpoczynku wydaje się także uzasadniony. Dane naukowe dotyczące statusu oksydacyjno-antyoksydacyjnego sportowców w okresie zmniejszonych obciążeń treningowych są dosyć skąpe.

2. Wymogi formalne

Rozprawa doktorska spełnia wymagania formalne stawiane pracom doktorskim w Akademii Wychowania Fizycznego im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu¹. Obydwa artykuły cyklu zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu i posiadających współczynnik Impact Factor. W obu publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem, a czasopisma w roku publikacji były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z obowiązującymi przepisami ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce^{2,3,4}.

Uzupełnieniem cyklu publikacji jest Autoreferat, zawierający syntetyczne omówienie wyników badań, streszczenia w języku polskim i angielskim, a także komplet wymaganych oświadczeń Doktorantki i współautorów. Układ Autoreferatu jest klasyczny i zgodny z zasadami redagowania opracowań naukowych.

¹ [https://bip.awf.poznan.pl/wp-content/uploads/2024/02/zal_nr_1_do_uchwaly_208_2024_senatu - tryb postepowania doktorskiego w awf w poznaniu.pdf](https://bip.awf.poznan.pl/wp-content/uploads/2024/02/zal_nr_1_do_uchwaly_208_2024_senatu_-_tryb_postepowania_doktorskiego_w_awf_w_poznaniu.pdf)

² <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/download.xsp/WDU20180001668/U/D20181668Lj.pdf>

³ <https://www.gov.pl/web/nauka/komunikat-ministra-edukacji-i-nauki-z-dnia-21-grudnia-2021-r-o-zmianie-i-sprostowaniu-komunikatu-w-sprawie-wykazu-czasopism-naukowych-i-recenzowanych-materialow-z-konferencji-miedzynarodowych>

⁴ <https://www.gov.pl/web/nauka/komunikat-ministra-nauki-z-dnia-05-stycznia-2024-r-w-sprawie-wykazu-czasopism-naukowych-i-recenzowanych-materialow-z-konferencji-miedzynarodowych>

3. Ocena osiągnięcia naukowego

Obie publikacje odpowiadają w pełni tematyce doktoratu. Zostały opublikowane w latach 2022 i 2024 w czasopismach anglojęzycznych o międzynarodowym zasięgu, po przejściu rygorystycznego procesu recenzyjnego. Deklarowany przez Doktorantkę największy wkład własny, w powstanie obu prac, został potwierdzony stosownymi oświadczeniami współautorów. Promotor był odpowiedzialny za koncepcję badań, wsparcie merytoryczne i jest ich współautorem obu publikacji.

Publikacja pierwsza

Cichoń J, Ostapiuk-Karolczuk J, Cieślicka M, Dziewiecka H, Marcinkiewicz A, Tafil-Klawe M, Basta P, Maciejewski D, Skarpańska-Stejnborn A. Effect of an acute exercise on early responses of iron and iron regulatory proteins in young female basketball players. BMC Sports Sci Med Rehabil. 2022 Apr 15;14(1):69. doi: 10.1186/s13102-022-00465-7. MNiSzW **100** pkt, IF **1,9**

Celem pracy była analiza wpływu intensywnego wysiłku fizycznego na wczesną odpowiedź żelaza (bezpośrednio po wysiłku i 3 godziny po jego zakończeniu) oraz na białka regulujące jego metabolizm u koszykarek będących w okresie aktywnego odpoczynku. Wyniki wykazały, że 10-minutowy stopniowany test wysiłkowy do odmowy wywołał jedynie krótkotrwały wzrost stężenia żelaza, wysycenia transferyny żelazem oraz lekkie zwiększenie CZWŻ. Po 3 godzinach restytucji wartości te wróciły do poziomu wyjściowego. Nie stwierdzono istotnych zmian w stężeniach hepcydyny, IL-6 ani innych białek związanych z homeostazą żelaza, takich jak ferrytyna i transferryna. Autorzy wnioskują, że u wypoczętych zawodniczek powysiłkowe zmiany w metabolizmie żelaza były zbyt małe, aby wywołać znaczące efekty ogólnoustrojowe.

Publikacja druga

Cichoń-Woźniak J, Ostapiuk-Karolczuk J, Cieślicka M, Dziewiecka H, Basta P, Maciejewski D, Skarpańska-Stejnborn A. Effect of 2 weeks rest-pause on oxidative stress and inflammation in female basketball players. Sci Rep. 2024 Jun 25;14(1):14578. doi: 10.1038/s41598-024-65309-5. MNiSzW **140** pkt, IF **3,9**.

Celem drugiej publikacji była zbadanie, czy ten sam intensywny wysiłek narusza równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną u koszykarek. Poziom całkowitej pojemności antyoksydacyjnej (TAC) znacznie wzrósł po wysiłku i pozostał niezmienny po 3 godzinach restytucji. Stężenie interleukiny-10 (IL-10) i aktywność kinazy kreatynowej (CK) wzrosły tuż po wysiłku i obniżyły się po 3 godzinach. Stężenie interleukiny-2 (IL-2) obniżyło się utrzymywało się na niższym poziomie w 3 godzinie po wysiłku, natomiast stężenia IL-13, IL-1α i tryptofanu (TRP) zmniejszyły się po 3 godzinach od wysiłku. Nie odnotowano istotnych zmian w innych parametrach biochemicznych (grupy karbonyłowe, SOD, TBARS). Autorzy pracy wnioskują, że wypoczęte zawodniczki charakteryzują się wysoką adaptacją do wysiłku i dużą tolerancją wysiłkową.

Warunkiem przyjęcia do druku omówionych powyżej artykułów naukowych jest uznanie ich przez redakcję oraz niezależnych recenzentów za prace wnoszące nowe, oryginalne wyniki badawcze, które są istotne dla rozwoju nauki. Należy również podkreślić, że w gronie autorów obu publikacji znajdują się osoby o ugruntowanej, znaczącej pozycji naukowej, które złożyły deklarację zatwierdzenia ostatecznej wersji manuskryptów przed ich przekazaniem do redakcji. Wobec powyższego, zasadnicza część merytorycznej oceny koncentruje się na przedstawionej w Autoreferacie syntezie wyników pochodzących z obu publikacji. Do załączonych artykułów odniesiono się tylko w zakresie formalnym.

4. Ocena strony merytorycznej Autoreferatu

Tytuł rozprawy i jego zgodność z metodyką badań oraz przejrzystość celu i hipotez

Zastrzeżenia budzi zgodność tytułu rozprawy z zastosowaną metodyką badań. Tytuł sugeruje ocenę wpływu 2-tygodniowego okresu aktywnego odpoczynku, tymczasem badania wykonano jednorazowo, bez pomiarów wyjściowych. Wg Recenzenta bardziej adekwatny byłby tytuł: *Status prooksydacyjno-antyoksydacyjny na tle stanu zapalnego i gospodarki żelazem u koszykarek po dwutygodniowym okresie aktywnego odpoczynku*. Brak punktu odniesienia wyraźnie pomniejsza wartość poznawczą pracy gdyż uniemożliwia jednoznaczne wnioskowanie o wpływie wymienionego okresu na badane wskaźniki.

Analogiczne zastrzeżenia odnoszą się do sformułowanego celu pracy oraz części hipotez badawczych.

Ocena uzasadnienia podjętych badań

Wprowadzenie do tematyki pracy zostało opracowane poprawnie i w sposób wystarczająco uzasadniający potrzebę podjęcia badań. Doktorantka trafnie charakteryzuje specyfikę obciążeń występujących w koszykówce oraz zwraca uwagę na znaczenie strategii regeneracyjnych w zapobieganiu przetrenowaniu i urazom. Słusznie podkreśla także niedostatek badań dotyczących stresu oksydacyjnego w okresach zmniejszonych obciążeń treningowych.

Jedno zastrzeżenie do tego fragmentu Autoreferatu dotyczy opisu okresu badań. Uzasadniając wybór okresu aktywnego odpoczynku (lub aktywnej regeneracji), Doktorantka odwołuje się do taperingu, co może sugerować, że oba okresy są tożsame. Tymczasem, choć tapering i okres aktywnego odpoczynku mają cechy wspólne (ograniczenie obciążeń treningowych i komponent regeneracyjny), różnią się celami i charakterystyką. Tapering służy optymalizacji formy przed startem, poprzez redukcję objętości przy zachowaniu intensywności i częstotliwości treningów. Okres przejściowy natomiast ma na celu regenerację po sezonie startowym i charakteryzuje się znacznym ograniczeniem objętości, intensywności oraz częstotliwości treningów. Aktywny odpoczynek może być jednym z elementów taperingu (może go wspomagać poprzez poprawę regeneracji między jednostkami treningowymi). Z

tego względu w ocenie Recenzenta możliwość praktycznego wykorzystania uzyskanych wyników w kontekście optymalizacji formy fizycznej zawodniczek przed zawodami może być ograniczona.

Ocena doboru grupy i kryteriów klasyfikacji zawodniczek do badań

W ocenie Recenzenta liczebność badanej grupy jest wystarczająca. W sporcie trudno jest bowiem zrekrutować odpowiednią dużą i co ważne jednorodną pod względem rodzaju dyscypliny, wieku i poziomu sportowego grupę. Autorka określiła także jasno warunki wyłączenia z badań. W Autoreferacie opis badanej grupy jest ogólny, jednakże bardziej szczegółowe opisy badanych zawodniczek pod względem cech antropometrycznych oraz wydolności fizycznej znajdują się w publikacjach będących podstawą rozprawy.

Opis projektu badań

Projekt badania został opisany w sposób wystarczający, aby można było go odtworzyć przez innych badaczy. Dodatkowa graficzna prezentacja schematu badań w sposób jasny ilustruje jego przebieg.

Trafność doboru i wartość metrologiczna metod badawczych

Badane wskaźniki oraz metody ich pomiaru zostały dobrane prawidłowo i są odpowiednie do realizacji celu pracy. Użyte przez Autorkę metody pomiarowe wskaźników krwi, odpowiadają obecnym światowym standardom, dzięki czemu uzyskane przez wyniki można uznać za w pełni wiarygodne i pozwalające na porównanie wyników własnych z wynikami innych autorów. Opis zastosowanych metod badawczych jest także prawidłowy

Opracowanie danych pomiarowych

Zastosowane metody statystyczne nie budzą zastrzeżeń. Autorka prawidłowo oceniła normalność rozkładów analizowanych zmiennych i na tej podstawie właściwie dobrała testy statystyczne do porównania zmian badanych wskaźników w układzie powtarzanych pomiarów, przed i po wysiłku fizycznym.

Zastrzeżenia natomiast budzi sposób przygotowania danych do analiz statystycznych. Z literatury naukowej wynika, że wskaźniki krwi oznaczane zwłaszcza tuż po wysiłku fizycznym powinny być korygowane o zmiany objętości osocza, które prowadzą do okresowego zagęszczenia krwi. Przy wysiłkach nie trwających długo i odbywających się w umiarkowanej temperaturze następuje to na skutek głównie przesunięcia płynów z wnętrza naczyń kapilarnych do przestrzeni śródmiąższowej. Co więcej do tego typu zmian może dochodzić także podczas intensywnych wysiłków krótkotrwałych, w tym nawet o charakterze sprinterskim (Zauhal i wsp. 2023, Ahmadizad S, El-Sayed MS, 2005; Bloomer & Farney 2013 ; Ciekot-Sołtysiak i wsp. 2024).

Uzyskane przez Doktorantkę wyższe wartości stężenia hemoglobiny (Hb), hematokrytu (Hct) oraz liczby krwinek czerwonych (RBC) bezpośrednio po 10-minutowym teście wysiłkowym świadczą o wystąpieniu właśnie takiej hemokoncentracji, będącej następstwem okresowego zmniejszenia objętości osocza. W Autoreferacie brak jest jednak informacji na temat korekty wyników badań o te zmiany. Jedynie w pierwszej załączonej publikacji występuje zdanie: „Relative changes in PV were calculated from blood hematocrit and hemoglobin concentration using Dill and Costill’s equation” (1974). Nie oznacza to jednak, że powysiłkowe wyniki badanych wskaźników krwi były przeliczone z uwzględnieniem tych zmian, tym bardziej że Doktorantka przedstawia i analizuje surowe wartości stężenia Hb, Hct w publikacji i odnosi się do nich także w Autoreferacie.

Zagadnienie to wymaga szczegółowego wyjaśnienia przez Doktorantkę, gdyż przy braku korekty wyników, obserwowane zmiany wskaźników krwi, tuż po wysiłku oraz po 3 godzinach odpoczynku mogą być błędnie przypisywane wyłącznie efektom wysiłku fizycznego, podczas gdy w rzeczywistości mogą być wynikiem zmian objętości osocza lub nakładania się obu tych czynników, prowadząc w konsekwencji do błędnych wniosków interpretacyjnych (Kargotich i wsp. 1998; Kargotich i wsp. 1997, Nowak R i wsp. 2025).

Jeżeli zatem wyniki powysiłkowe nie były korygowane, Doktorantka powinna dokonać stosownych przeliczeń surowych danych, ponownie je przeanalizować oraz zweryfikować sformułowane w Autoreferacie wnioski. Rezultaty tych działań powinny zostać przedstawione w formie kilku slajdów podczas odpowiedzi na niniejszą uwagę.

Prezentacja i opis wyników

Doktorantka odsyła czytelnika do tabel i wykresów zamieszczonych w cyklu publikacji, co zwalnia Recenzenta z ich szczegółowej oceny. Opis wyników jest ogólnie jasny i uporządkowany, jednak w tej części Autoreferatu nie ustrzegła się błędów:

- W podrozdziale 5.2, we fragmencie opisującym powysiłkowe zmiany mioglobiny, wskazano nieprawidłowy odnośnik – w tekście przywołana jest tabela 3 (publikacja 1), podczas gdy wyniki znajdują się na rycinie 4.
- W tym samym podrozdziale przy omawianiu korelacji kinazy kreatynowej wymieniono IL-13, która nie figuruje w tabeli 3 publikacji 2, choć pojawia się w legendzie pod tabelą.
- W podrozdziale 5.4 dwukrotnie opisano wyniki IL-6.
- W podrozdziale 5.5, dotyczącym opisu wskaźników czerwonych krwinek, w przywołanej z publikacji 1 tabeli nr 4 uwzględniono średnią objętość płytek krwi (MPV). Płytki, choć pochodzą z tej samej linii mieloidalnej co erytrocyty, nie należą do wskaźników krwinek czerwonych.

Wyjaśnienia wymaga cel uwzględnienia tego wskaźnika w wynikach badań. Wyjaśnienia wymaga również, dlaczego w tabeli 4 zaprezentowano wyłącznie MPV, podczas gdy w metodyce badań Doktorantka wymienia także liczbę płytek (PLT), wskaźnik anizocytozy płytek (PDW) i płytkokryt (PCT).

- W podrozdziale 5.6, opisując markery gospodarki żelazem, w zdaniu dotyczącym laktoferyny zamiast „przed wysiłkiem vs po 3 h restytucji” użyto błędnego sformułowania „przed treningiem vs po 3 h restytucji”.

Ocena merytoryczna dyskusji

Niewłaściwy sposób przygotowania wyników do analiz statystycznych, tj. brak korekty na zmiany objętości osocza, utrudnia jednoznaczną interpretację rezultatów badań. Z tego względu nie jest możliwe odniesienie się do rozważań zawartych w dyskusji Autoreferatu. Zwrócono jedynie uwagę na błędy i nieścisłości pojawiające się w tej części opracowania, dotyczące m.in. powtórzeń treści, nieprecyzyjnego nazewnictwa wskaźników, nie do końca właściwej interpretacji cytowanych wyników badań oraz mało zrozumiałych stwierdzeń.

- I tak, niewłaściwe jest porównywanie krótkotrwałych, powysiłkowych zmian wskaźników morfologicznych krwi (RBC, HGB, HCT) ze zmianami obserwowanymi przez Mujikę i wsp. po czterotygodniowym okresie odpoczynku u pływaków (str. 24, akapit 1). Procesy erytropoezy wymagają czasu: dojrzewanie krwinek czerwonych od erytroidalnych komórek prekursorowych do dojrzałego erytrocytu trwa około 5–7 dni, a cały proces erytropoezy, począwszy od pluripotentnej komórki pnia szpiku, około 15 dni. W zastosowanym schemacie badań zastosowane wysiłki stopniowane trwały średnio 10 minut. Trudno zatem mówić o dodatnim bilansie między erytropoezą a hemolizą u badanych koszykarek, zwłaszcza że poza oznaczeniem stężenia żelaza nie badano innych wskaźników hemolizy krwinek czerwonych. Powysiłkowe wartości HCT i HGB powinny być tu wykorzystane tylko do wyliczeń powysiłkowych zmian objętości osocza.
- Niezrozumiałe jest stwierdzenie, że „wzrost TIBC u sportowców sugeruje zwiększone zapotrzebowanie na żelazo, co wskazuje, że żelazo jest przenoszone do zmagazynowanej puli żelaza” (str. 25, akapit 2, zdanie pierwsze). W przypadku zwiększonego zapotrzebowania na żelazo, jest ono mobilizowane nie do, lecz z puli rezerwowej (ferrytyny) lub może pochodzić ze zwiększonego wchłaniania w przewodzie pokarmowym. W takich warunkach jednak TIBC wzrasta także na skutek zwiększenia ilości transferyny we krwi.
- W paragrafie trzecim na stronie 25, w dwóch ostatnich zdaniach Doktorantka powtarza tę samą treść.
- W paragrafie pierwszym na stronie 26 Doktorantka błędnie interpretuje wyniki badań Peelinga i wsp. (2014). Odnosi je bowiem do niższego wyjściowego poziomu żelaza, podczas gdy autorzy

pracy wskazują na gorszy stan odżywienia organizmu żelazem, oceniany na podstawie stężenia ferrytyny, w kontekście powysiłkowych zmian hepcydyny.

- Nie jest jasne, na jakiej podstawie stwierdzono, że źródłem uwalnianych jonów żelaza była ferrytyna, a nie np. niewielka hemoliza krwinek czerwonych, niewywołująca jeszcze istotnej peroksydacji lipidów w błonach krwinek. Peeling i wsp. (2014) w cytowanej przez Doktorantkę pracy sugerują właśnie hemolizę jako możliwą przyczynę powysiłkowego wzrostu stężenia żelaza w surowicy.
- W pracach naukowych powinno używać się pełnych nazw parametrów, np. „wysycenie transferyny żelazem” zamiast „wysycenie transferyny”. Podobnie określenie „poziom żelaza” powinno być zastąpione sformułowaniem „stężenie żelaza”.

5. Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest ciekawa. Oparta jest na właściwych przesłankach teoretycznych, poprawnie dobranych metodach badawczych. Według Recenzenta Jej największą wartością jest kompleksowa analiza powysiłkowych zmian markerów równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej na tle parametrów stanu zapalnego i metabolizmu żelaza u koszykarek po okresie aktywnego odpoczynku.

Zgłoszone uwagi krytyczne, choć istotne, nie dyskwalifikują rozprawy. Po uwzględnieniu konieczności jednoznacznego odniesienia się podczas obrony do problemu korekty danych względem zmian objętości osocza oraz ograniczeń interpretacyjnych wyników, wynikających z wykonania jednorazowych badań, praca spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim.

W związku z powyższym wnoszę do Rady Wydziału Akademii Wychowania Fizycznego im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu o dopuszczenie pani mgr Justyny Cichoń-Woźniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 30.01.2026 r.

dr hab. Jadwiga Malczewska-Lenczowska

