

Prof. dr hab. Eugenia Murawska-Ciałowicz
AWF im. Polskich Olimpijczyków we Wrocławiu
Profesor emerytowany
(były kierownik Katedry Fizjologii i Biomechaniki)

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr inż. Pauliny Małkowskiej

„Ekspresja wybranych genów i białek związanych z odpowiedzią zapalną w reakcji na progresywny test do odmowy u sportowców wyczynowych i osób niećwiczących”

napisanej pod kierunkiem dr. hab. Marka Sawczuka, prof. US oraz promotora pomocniczego
dr n. med. Patrycji Tomasiak

1. Podstawa formalna

Recenzja została przygotowana w odpowiedzi na pismo Zastępcy Przewodniczącej Rady Naukowej Instytutu Nauk o Kulturze Fizycznej Uniwersytetu Szczecińskiego, dr hab. Justyny Krzepoty, prof. US oraz Uchwałę nr 3/2026 dnia 12 lutego 2026r.

2. Problem badawczy, jego oryginalność i uzasadnienie

Intensywny wysiłek fizyczny oraz obciążenie psychiczne są stałym elementem życia wyczynowych sportowców. Systematyczne treningi prowadzą do stopniowej adaptacji organizmu do coraz większych obciążeń, co wiąże się ze zmianami w funkcjonowaniu i metabolizmie różnych układów i narządów. Jednym z układów, który ulega modyfikacjom pod wpływem treningu i jednorazowego wysiłku jest układ odpornościowy, odpowiedzialny za obronę organizmu i udział w procesach regeneracyjnych, poprzez aktywację szeregu skomplikowanych mechanizmów komórkowych, w których uczestniczą różne komórki tego układu i wydzielane przez nie substancje, w tym cytokiny. Immunologia wysiłku fizycznego to obecnie dynamicznie rozwijająca się dziedzina badań. Lepsze poznanie zmian immunologicznych podczas wysiłku i w okresie restytucji może przyczynić się do efektywniejszego planowania treningu i regeneracji, co poprzez ich personalizację pozwoli zadbać o zdrowie i formę sportową zawodnika, obniżyć ryzyko kontuzji i przeciwdziałać przetrenowaniu.

Zagadnienia zaburzeń odporności i zwiększonej zapadalności zawodników wysokiego wyczynu na różne infekcje, większe ryzyko kontuzji to tematyka wciąż nie zbadana wyczerpująco, choć coraz częściej poruszana w badaniach naukowych dotyczących sportu kwalifikowanego. Znajomość kierunku i dynamiki zmian wewnątrzustrojowych, w tym zmian immunologicznych wraz z personalizacją treningu niewątpliwie składają się na sukces sportowy i jakość życia sportowca.

Praca przedstawiona mi do recenzji skupia się na ocenie zmian parametrów układu białokrwinkowego, tj. całkowitej liczby WBC oraz frakcji neutrofilii i limfocytów, a także wybranych cytokin, w tym przeciwzapalnej interleukiny-4 (IL-4), prozapalnego czynnika martwicy nowotworów (TNF- α) oraz białek metabolicznych, uznanych za markery stresu metabolicznego - czynnika wzrostu fibroblastów 21 (FDF21) i czynnik różnicowania wzrostu 15 (GDF15), do oceny których wykorzystano immunoenzymatyczną metodę ELISA. Ponadto badano ekspresję genów (*IL-4R*, *TNFR1*, *TNFR2*, *FGFR1*, *FGFR3*, *FGFR4*, *KLB*, *GFRAL*) kodujących wymienione białka i ich receptory. Do ich identyfikacji wykorzystano metodę ilościowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-qPCR).

Badania wykonano w grupie wyczynowych sportowców (piłkarzy nożnych) i osób deklarujących niski poziom aktywności fizycznej. Analiza zachodzących zmian była przeprowadzona w kilku punktach czasowych: przed testem, bezpośrednio po nim oraz w okresie restytucji, tj. w 30. minucie po wysiłku, a także 6, 24 i 48h po jego zakończeniu. Wysiłek miał charakter testu progresywnego, przeprowadzonego na bieżni ruchomej, podczas którego badany wykonywał pracę o wzrastającym

obciążeniu. W takcie testu oceniano podstawowe parametry fizjologiczne (wentylację minutową płuc, częstość oddechów, współczynnik oddechowy), a przede wszystkim pułap tlenowy, oceniający wydolność fizyczną badanych.

Praca doktorska jest bardzo ambitna naukowo, trudna metodologicznie i logistycznie, tym bardziej doceniam starania Autorki, nowoczesność Jej badań i ich istotne znaczenie poznawcze, wnoszące nową jakość i spojrzenie na biologiczne zagadnienia treningu sportowego.

3. Struktura pracy i ocena merytoryczna jej poszczególnych części

Praca doktorska ma charakter maszynopisu składającego się ze 126 stron. Zasadniczy tekst tego opracowania, wraz z piśmiennictwem, zawarty jest na 119 stronach. Dodatkowe strony to spis 20 tabel oraz 29 rycin oraz dołączony załącznik, którego treść to Uchwała Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Szczecińskim.

Wstęp pracy obejmuje zagadnienia dotyczące molekularnych podstaw odpowiedzi zapalnej rozwijającej się w organizmie w okresie restytucji i udziału w niej cytokin pro- i przeciwzapalnych, zagadnień wpływu poziomu wytrenowania organizmu na odpowiedź zapalną, a także teoretycznych podstaw podjęcia tematu, w której Autorka charakteryzuje wybrane parametry w kontekście wysiłku/treningu fizycznego, obciążeń wysiłkowych i procesów adaptacji fizjologicznej.

Autorka postawiła sobie za cel m.in. zbadanie dynamiki odpowiedzi immunologicznej i metabolicznej, badanej na podstawie zmian liczby komórek układu białokrwinkowego oraz stężeń FGF21, GDF15, IL-4 i TNF α i ekspresji genów tych białek i ich receptorów w różnych punktach czasowych, po wykonaniu intensywnego wysiłku. Innym ważnym celem była ocena przydatności diagnostycznej wybranych czynników w analizie adaptacji organizmu do wysiłku, a także ocenę zmienności badanych markerów rozpatrywanych na tle różnic w poziomie wytrenowania pomiędzy zawodnikami piłki nożnej a osobami o niskiej wydolności fizycznej, niećwiczących, ocenianej na podstawie wielkości VO₂max.

W mojej opinii już samo podjęcie tematyki immunologicznej w relacji do wysiłku jest działaniem bardzo ambitnym, świadczącym o odwadze naukowej Autorki. Cel jest jasny, tezy postawione prawidłowo.

Materiał i metody - Rozdział napisany dobrze, zwłaszcza część poświęcona działaniom analitycznym. Mam jednak kilka uwag i/lub komentarzy, pytań, które być może zasłużą na refleksję Autorki.

Rozdział 1. Kwalifikacja uczestników badań: Autorka opisuje kryteria włączenia i wykluczenia z badań. I choć jest to dość długa lista czynników, głównie klinicznych, to jednak nie znajdują się na niej np. czynniki związane ze stylem życia, które również mogą mieć bezpośredni modyfikujący wpływ na badane parametry. W związku z tym prosiłabym o wyjaśnienie, czy np. palenie papierosów, poziomu stresu, długość i jakość snu, predyspozycja dnia, poziom odczuwalnego zmęczenia czy bólu mogłyby mieć wpływ na badane markery? W przyszłych badaniach zaproponowałabym też rozważenie wykorzystania prostych narzędzi badawczych, np. skali Borga (RPE) czy Indexu Hoopera, m.in. do oceny subiektywnego zmęczenia, co choć częściowo byłoby przydatne w charakterystyce badanych i niewątpliwie wzbogaciło analizy o dane wykorzystywane w praktyce trenerskiej. Proponowałabym również, aby w przyszłych badaniach wykorzystać klasyczne, biochemiczne markery stresu (np. stężenie kortyzolu czy adrenaliny) i zmęczenia (np. mleczanu) i korelować je z wynikami immunologicznymi. Tym bardziej, że we wnioskach Autorka powołuje się na zależności pomiędzy hormonami stresu a liczbą białych krwinek po wysiłku fizycznym.

Rozdział 2. Progresywny test do odmowy: Test wykonywany był na bieżni ruchomej. Brakuje jednak pewnych informacji, które nie wpływają na wartość pracy, ale można było je przedstawić, np. jaka była prędkość początkowa przesuwu taśmy, w jakich odstępach czasowych i o jaką wartość prędkość zwiększano? Zakładam, że nie był to test typu „ramp”, a „schodkowy”. Proszę o podanie tych

informacji proceduralnych podczas obrony. W części wyniki nie przedstawiono również przy jakich obciążeniach (prędkość biegu, %VO₂max, HR, %HRmax) pojawiał się próg anaerobowy w obu badanych grupach. Z mojego punktu widzenia akurat to jest ważną informacją, dającą wskazówki co do intensywności obciążeń tolerowanych przez badanych, wzbogacającą również część interpretacyjną badań.

Cześć analityczna badań opisana jest poprawnie. Metodologia przygotowania materiału do badań, izolacji całkowitego RNA, syntezy cDNA i pozostałe procedury, w tym metody oceny statystycznej uzyskanych wyników są dobrze opisane i nie budzą moich zastrzeżeń. Mam tylko jedno pytanie dotyczące tej części. Czy rzeczywiście do analiz pobierano jedynie 500µL krwi pełnej (str. 43)? Czy była to wystarczająca objętość krwi? Czy z tej objętości uzyskiwano odpowiednią objętość osocza do wykonania wszystkich analizy, w tym analiz z wykorzystaniem metody ELISA? Prosiłabym o uzupełnienie tej części metodologicznej o informacje czy osocze było może rozcieńczane przed badaniami metodą ELISA, a analizy wykonywane podwójnie?

Wyniki: Badania wykazały, że jednorazowy, intensywny wysiłek pozostaje bez wpływu na stężenia FGF21 i GDF15 u osób zaadaptowanych. Ponadto u osób o niskiej aktywności fizycznej obserwuje się szybszą aktywację receptorów FGF21, co może świadczyć o ich większej wrażliwości na stres w porównaniu z osobami o wyższym poziomie wydolności fizycznej, zaadaptowanych do wysiłku. Potwierdza to również brak zmian markerów odpowiedzi prozapalnej u zawodników w porównaniu do osób niećwiczących. Ponadto wyższe stężenia FGF21 i GDF15 u osób niećwiczących/ o niskiej wydolności fizycznej, wskazuje na większe u tych osób obciążenie metaboliczne i mitochondrialne wywołane wysiłkiem.

Rozdział Wyniki jest obszerny i przygotowany bardzo starannie. Kilka mniejszych uwag to: str 49. – zamiast „wzrost” proponuję użycie określenia „wysokość ciała”; str 50., tab.3 i opis w tekście - w mojej opinii przedstawiono mediany maksymalnych wartości parametrów fizjologicznych mierzonych w teście progresywnym, tj. maksymalną wentylację minutową (MVmax), maksymalną wartość współczynnika oddechowego (RQmax) i maksymalną częstości oddechów (Rfmax) Proszę o sprostowanie mojej uwagi jeśli się mylę. Mam też pytanie o wyniki progu anaerobowego, który miał być wyliczony i o którym Autorka wspomina na str. 42. W celach informacyjnych warto było również przedstawić czas trwania testu progresywnego i czas wysiłku po przekroczeniu progu anaerobowego, aby mieć podstawę uzasadniającą wyższą wartość RQ (RQmax) i większy udział przemian anaerobowych w grupie osób trenujących.

Dyskusja: Rozdział jest obszerny, a dyskusja dojrzała i bardzo merytoryczny. Odnosi się wrażenie dużego odczytanie Autorki i umiejętność głębokiej interpretacji wyników własnych i konfrontacji ich z wynikami innych autorów, publikujących w obszarze immunologii wysiłku/ treningu sportowego. Doktorantka wykazała się bardzo dobrym przygotowaniem teoretycznym.

Wnioski: Choć merytoryczne są w mojej opinii trochę zbyt obszernie opisywane, ale rozumiem, że wiele parametrów analizowanych w kilku momentach czasowych i niejednorodność kierunków zmian wymaga nieco szerszego podsumowania.

Piśmiennictwo: Głównie anglojęzyczne, w imponującej liczbie 303. Bardzo dobrze dobrane i cytowane w tekście.

4. Podsumowanie i uwagi końcowe:

Całość manuskryptu czyta się bardzo dobrze. Język wypowiedzi Doktorantki jest dojrzały, klarowny i pomimo trudnej tematyki bardzo przystępny. Niezależnie od moich kilku pytań i sugestii pracę

oceniam bardzo wysoko. W mojej opinii praca jest nowatorska, ambitna, otwiera „nowe drzwi” do dalszych badań w obszarze immunologii sport.

Dodatkowym potwierdzeniem ważności tematyki i jakości wykonanych przez Autorkę badań są opublikowane prace, bazujące na wynikach zaprezentowanych w manuskrypcie: *“Protective Effects of Regular Physical Activity: Differential Expression of FGF21, GDF15, and Their Receptors in Trained and Untrained Individuals”* Int. J. Mol. Sci. 2025, 26, 7115; <https://doi.org/10.3390/ijms26157115> (IF=4.9, MNiSW=140pkt) oraz *“Differential Inflammatory Response to Exhaustive Exercise in Trained and Untrained Individuals: Potential Biomarkers of Training Adaptation”* Appl. Sci. 2026, 16, 2643; <https://doi.org/10.3390/app16062643> (IF=2.5, MNiSW=40pkt). W przygotowanie obu prac mgr Paulina Małkowska miała dominujący wkład, zgodnie z dołączonymi oświadczeniami współautorów.

Biorąc pod uwagę umiejętność przeprowadzenia trudnych metodologicznie badań, ich pracowitość i stopień skomplikowania, mgr Paulina Małkowska zasługuje na pochwałę. Przeprowadzone badania wymagały od Niej dużej dyscypliny, umiejętności analitycznych i doskonałych zdolności logicznych oraz wiedzy i umiejętności interpretacyjnych.

Stwierdzam, że dysertacja spełnia wymogi ustawowe, określone w art. 187 ust. 1-2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 ze zm.). Wnoszę zatem o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr Pauliny Małkowskiej do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę nowatorski charakter poruszanej problematyki, rozmach, ogrom bardzo dobrze opracowanych wyników i odwagę naukową wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Nauk o Kulturze Fizycznej Uniwersytetu Szczecińskiego o **wyróżnienie pracy**.

Wrocław, 14.04.2026r.

