

prof. dr hab. Robert Olek
Akademia Wychowania Fizycznego
im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu
ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Poznań, 30/10/2023

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Przewłóckiej
pt.: „Wpływ suplementacji probiotykami i witaminą D3 na wydolność
fizyczną i funkcje błony śluzowej jelita sportowców”**

Forma i objętość pracy

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Przewłóckiej oparta jest na cyklu trzech artykułów opublikowanych w czasopiśmie z listy Journal Citation Reports. Przedstawiona do recenzji rozprawa składa się z 33 stronicowego autoreferatu zawierającego wykaz prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, wykaz stosowanych skrótów, streszczenie w języku polskim, streszczenie w języku angielskim, wprowadzenie, cele pracy i hipotezę badawczą, omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz podsumowanie całości rozprawy. Autoreferat zakończony jest spisem piśmiennictwa zawierającym 51 pozycji, głównie oryginalnych artykułów w języku angielskim.

Artykuły należące do cyklu to praca przeglądowa „Gut-muscle axis exists and may affect skeletal muscle adaptation to training”, oraz dwie prace oryginalne: „Effects of probiotics and vitamin D3 supplementation on sports performance markers in male Mixed Martial Arts athletes: A randomized trial” i „Combined probiotics with vitamin D3 supplementation improved aerobic performance and gut microbiome composition in Mixed Martial Arts athletes”, o łącznym Impact Factor 15.319. We wszystkich trzech pracach mgr Katarzyna Przewłócka jest pierwszym autorem. Zgodnie z informacją umieszczoną w artykułach

Doktorantka we wszystkich pracach brała czynny udział w tworzeniu koncepcji i pisaniu manuskryptu. Ponadto w pracach oryginalnych prowadziła badania i analizy laboratoryjne, oraz statystyczne. W tym miejscu należy zaznaczyć, że do rozprawy zostały dołączone oświadczenia współautorów, jednak nie wszystkich.

Ogólna ocena rozprawy

W ostatnich latach szybko wzrasta liczba publikacji naukowych dotyczących roli mikrobioty jelitowej w kształtowaniu zdrowia człowieka. Obecnie wiadomo, że mikrobiota jelitowa nie uczestniczy wyłącznie w procesach związanych z trawieniem i wchłanianiem substancji pokarmowych. Bakterie wchodzące w skład mikrobioty jelitowej pełnią rozmaite funkcje, a ich prawidłowa struktura ilościowa i jakościowa wspiera homeostazę całego organizmu. Coraz częściej mówi się o wpływie mikrobiomu na centralny układ nerwowy. Nieco młodszym tematem jest współdziałanie mikrobiom – mięśnie szkieletowe. Dlatego istnieje potrzeba prowadzenia badań w tym kierunku. W ten nurt badań wpisują się badania mgr Katarzyny Przewłóckiej na temat: „Wpływ suplementacji probiotykami i witaminą D3 na wydolność fizyczną i funkcje błony śluzowej jelita sportowców”.

Autoreferat rozpoczyna się pięciostronicowym „Wprowadzeniem”, z opisem charakterystyki mikrobiomu jelitowego, wpływu aktywności fizycznej na mikrobiom jelitowy, wpływu mikrobiomu jelitowego na zdolności wysiłkowe sportowców, znaczenia probiotyków w sporcie i synergistycznego oddziaływania witaminy D3 i probiotyków. W dalszej części, przedstawione zostały trzy cele:

1. Określenie wpływu mikrobiomu jelitowego na zdolności wysiłkowe sportowców.
2. Ocena wpływu suplementacji probiotyków w połączeniu z witaminą D3 na skład i różnorodność mikrobiomu jelitowego sportowców oraz parametry przepuszczalności błony śluzowej jelita.
3. Ustalenie wpływu zmian składu mikrobiomu jelitowego na:
 - parametry wydolnościowe sportowców,
 - tempo utylizacji mleczanu po wysiłku fizycznym,
 - parametry uszkodzenia mięśni szkieletowych po treningu w pobranej krwi,
 - stężenie cytokin pro- i przeciwzapalnych w pobranej krwi,

i postawiona została następująca hipoteza badawcza:

Połączona suplementacja probiotykami i witaminą D3 korzystnie wpływa na skład mikrobiomu jelitowego i może przekładać się na poprawę wyników sportowych.

Następnie omówione zostały publikacje wchodzące w skład rozprawy. Rozpoczęcie od pracy przeglądowej powoduje, że czytelnik po raz drugi zostaje wprowadzony w temat. W moim odczuciu, omówienie pracy przeglądowej jako ostatniej umożliwiłoby przedyskutowanie oryginalnych prac własnych w odniesieniu do informacji podanych w pracy przeglądowej. Pozwoliłoby na pełniejsze uwypuklenie istotności uzyskanych wyników.

Uwagi szczegółowe

błędy merytoryczne:

- w mojej ocenie cel #3 nie został osiągnięty; wykazane zostały zmiany w składzie mikrobiomu oraz zmiany w parametrach wydolnościowych sportowców i tempie utylizacji mleczanu po wysiłku fizycznym, jednak brakuje wskazania wpływu (najlepiej poprzez analizę regresji logistycznej, ewentualnie korelacje) – proszę o przedstawienie tych wyników w trakcie prezentacji;
- w pracy opublikowanej w Sports Medicine – Open, Fig. 3 zawiera 22 wyniki, pomimo że zgodnie z informacją umieszczoną w materiałach i metodach badanie ukończyło 23 zawodników – proszę o wyjaśnienie;
- pozycja #25 w spisie piśmiennictwa (podobnie jak #35 we Frontiers in Nutrition) nie ma odniesienia do rzeczywistości; ponadto podana we Frontiers in Nutrition nazwa czasopisma (Med. Sci Sports Exerc) wprowadza czytelnika w błąd;

analiza i przedstawienie wyników

- w pracy opublikowanej w Sports Medicine – Open dwukrotnie pokazane są te same wyniki (Fig. 3A „Before” = Fig. 3B „BT0”; Fig. 3A „After VD” = Fig. 3B „AT0”), różnice wskazane na Fig. 3A można było wykazać na Fig. 3B, dlatego uważam, że Fig. 3A jest niepotrzebna;
- dwuczynnikowa analiza wariancji pozwala uzyskać porównanie zmian w czasie, zmian wynikających z suplementacji oraz interakcji tych dwóch czynników; proszę o wyjaśnienie, dlaczego w opublikowanych pracach przedstawiane są tylko poziomy

istotności dla porównań w czasie (przed - po)

- w pracy opublikowanej we *Frontiers in Nutrition* Fig. 3 przedstawia „Heatmap” mikrobiomu; a) proszę o wyjaśnienie co było punktem odniesienia zaprezentowanych zmian i dlaczego nie były to wyniki uzyskane w próbkach przed okresem suplementacji; b) wyniki zostały przedstawione w niezrozumiałej dla mnie kolejności – zgodnie z opisem od lewej: PRO_A, PRO_B, PRO_A, VIT_A, VIT_A, PRO_A, PRO_A, VIT_B itd., proszę o wyjaśnienie dlaczego nie zostały pogrupowane w zależności od czasu i rodzaju suplementacji

nadinterpretacja wyników

- „Połączona 4-tygodniowa suplementacja probiotykiem i witaminą D3 ... przyczyniła się do uszczelnienia bariery jelitowej” (strona 28 Autoreferatu); przedstawione wyniki pozwalają stwierdzić różnice w stężeniu kalprotektyny, która jest markerem stanu zapalnego jelit (za Autorem strony 27, 28 Autoreferatu); wskaźnikiem przepuszczalności jest zonulina, a w wykazanych stężeniach zonuliny nie odnotowano żadnych różnic;
- „Wyniki przeprowadzonego badania wskazują, że zmiany obserwowane w składzie mikrobiomu jelitowego korelowały z poprawą wydolności w trakcie testu aerobowego” (strona 27 Autoreferatu), oraz „Zmiany składu mikrobiomu jelitowego korelowały z poprawą wyników sportowych zarówno w teście wydolności beztlenowej jak i tlenowej” (strona 28 Autoreferatu); nie zostały przedstawione wyniki korelacji – proszę o przedstawienie współczynnika korelacji oraz poziomu istotności tych wyników w trakcie prezentacji;
- „Korzystna modulacja profilu mikrobiomu jelitowego w wyniku połączonej suplementacji, przyczyniła się do szybszego tempa utylizacji mleczanu po testach supramaksymalnych u zawodników MMA” (strony 28, 29 Autoreferatu): czy szybsze tempo utylizacji mleczanu było obserwowane przy okazji zmian na poziomie konkretnego szczepu? którego? – proszę o przedstawienie tych wyników w trakcie prezentacji;
- „Jeszcze większy wzrost po wykonanym teście obserwowany był po 4-tygodniowym okresie suplementacji ($p < 0,001$)” (strona 25 Autoreferatu i w języku angielskim strona

- 7 Sports Medicine – Open); w przedstawionym materiale nie wykazano różnicy pomiędzy wzrostami 25(OH)D3 w surowicy; większy jest poziom istotności statystycznej (0.05 vs. 0.001);
- „Po czterech tygodniach suplementacji doszło do wzrostu stężenia LA w grupie Vit D ($5,88 \pm 1,55$ mmol/L) w porównaniu z grupą PRO + VitD ($4,73 \pm 1,63$ mmol/L) 60 minut po ćwiczeniach ($p < 0,05$)” (strona 25 Autoreferatu); w 60 minut po wysiłku należałoby użyć sformułowania „większy/mniejszy spadek stężenia”, ponieważ wzrost został zaobserwowany w 3 minucie po zakończeniu wysiłku;
 - „W badaniu wykazano również poprawę tempa utylizacji mleczanu w grupie suplementowanej probiotykiem” (strona 25 Autoreferatu); przedstawione wyniki pozwalają stwierdzić, że powysiłkowy spadek stężenia mleczanu we krwi jest większy po suplementacji kombinacją probiotyk + witamina D3 w porównaniu do suplementacji samą witaminą D3; żeby stwierdzić wspomnianą „poprawę tempa utylizacji mleczanu” należałoby uzyskać różnice w wynikach przed/po w danej grupie (a takich nie wykazano; Fig. 2C Sports Medicine – Open);
 - „Różnica była istotna statystycznie i wynosiła $69,50 \pm 46,91$ przed suplementacją i $34,79 \pm 24,38$ mmol/L po suplementacji” (strony 27-28 Autoreferatu); podane wartości odnoszą się do wykazanych stężeń, nie do różnic;

omyłki językowe

- „sportowcy ... powinni suplementować wyższe dawki” (strona 10 Autoreferatu) – powinni być suplementowani wyższymi dawkami;
- „... two-factor ANOVA” (strona 12 Autoreferatu) – two-way ANOVA;
- „... co tworzący ...” (strona 13 Autoreferatu) – co tworzy;
- „... suplementacji probiotyków ...” (strona 18 Autoreferatu) – suplementacji probiotykami;
- „... niekorzystnym skutkami ...” (strona 20 Autoreferatu) – niekorzystnymi skutkami;
- „... pomiędzy mikrobiom jelitowym a mózgiem ...” (strona 22 Autoreferatu) – mikrobiomem jelitowym

inne

- wykaz stosowanych skrótów w porządku alfabetycznym byłby dużym ułatwieniem;
- brak informacji czy wykonywana była korekcja stężeń względem powysiłkowych zmian objętości osocza/surowicy krwi (według metody Costill i Fink 1974; PMID: 4415099);
- „wynik sportowy” (strona 18 Autoreferatu) to zdobycie mistrzostwa, wygrana, przegrana; w tej pracy były oceniane możliwości wysiłkowe zawodników;
- „Krew została przeanalizowana pod kątem stężenia 25(OH)D3 przy pomocy rozcieńczania izotopów metodą ...” (strona 23 Autoreferatu) – proszę o wyjaśnienie co znaczy: „przy pomocy rozcieńczania izotopów”;
- „109 jednostek” (strona 23 Autoreferatu) - 10⁹;

Podsumowanie i konkluzja

W mojej opinii rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Przewłóckiej, pomimo wymienionych powyżej uwag, spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim w świetle obecnych uregulowań prawnych (art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce). W związku z powyższym, wnioskuję o dopuszczenie rozprawy do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu.

prof. dr hab. Robert Olek