

Prof. dr hab. Grażyna Jasieńska
Zakład Zdrowia i Środowiska
Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Kraków, 9 czerwca 2015

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Żelaźniewicz

**Zmiana morfologii piersi w okresie ciąży jako wskaźnik inwestycji prenatalnej i
laktacyjnej kobiet**

Z prawdziwą przyjemnością przeczytałam pracę doktorską Pani Agnieszki Żelaźniewicz. Wybór tematu, oryginalne rozwinięcie hipotez badawczych, wieloaspektowe podejście merytoryczne, oraz bogactwo metod badawczych powodują, że praca ta dorównuje jakością rozprawom doktorskim z dziedziny biologii człowieka pisanych w najlepszych światowych placówkach uniwersyteckich. Rozprawa doktorska została napisana w Katedrze Biologii Człowieka Uniwersytetu Wrocławskiego pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Bogusława Pawłowskiego.

Autorka podjęła się próby odpowiedzi na pytanie dlaczego u kobiet gruczoły sutkowe są powiększone od okresu dojrzewania do końca życia, a nie tak jak u innych ssaków jedynie w okresie ciąży i laktacji. Praca testuje hipotezę, że piersi – ich wielkość oraz symetria są miarodajnymi wskaźnikami “jakości” kobiety. Główna hipoteza nie jest oryginalna, bo podobne hipotezy były wcześniej proponowane w literaturze, ale ma ona wiele oryginalnych, nowatorskich aspektów. Prawdopodobnie również jest to pierwsze badanie analizujące zmiany poziomu asymetrii piersi w czasie ciąży i jedno z nielicznych, w którym wykonano kilkukrotne pomiary zmian wielkości piersi. Warto również podkreślić, że poprzednie badania miały znacznie mniejsze próby, niż badanie wykonane w ramach pracy doktorskiej. Autorka zakłada, że wielkość i symetria piersi, oraz zmiany tych parametrów w czasie ciąży będą korelować z kondycją noworodka oraz z jakością mleka syntetyzowanego w czasie laktacji.

Przegląd literatury we wstępie pracy jest logiczny i uporządkowany. Każdy z podrozdziałów jest próbą syntetycznego opisu określonego problemu badawczego. Wstęp do pracy jest napisany znakomicie. Sposób opisu stanu wiedzy, wykazanie niejednoznaczności, czy braku wyników dotyczących określonych zagadnień i hipotezy badawcze postawione przez Autorkę powodują, że czytelnik jest prawdziwie zaintrygowany tematem pracy i z zainteresowaniem czyta kolejne jej części.

Od strony metodologicznej praca jest bogata i oczywiste jest, że planowanie i wykonanie badania wymagało starannego przeglądu literatury, zapoznania się z metodami poprzednich badań, oraz krytycznego podejścia do tego co było wcześniej

wykonane. Jednym z najtrudniejszych pomiarów antropometrycznych jest pomiar rozmiarów piersi. W poprzednich badaniach najczęściej spotyka się różnego rodzaju metody pozwalające na oszacowanie rozmiarów, zamiast wykonania pomiaru. Szacowanie prowadzi do dużych błędów w ocenie, a dodatkowo niektóre z metod (np. ocena rozmiarów na podstawie rozmiarów noszonej przez kobiety bielizny) nie nadają się do oceny symetrii. Warto podkreślić, że w pracy doktorskiej zastosowano nowoczesną metodę pomiaru objętości piersi, tzn. trójwymiarowe skanowanie, które pozwala na precyzyjny pomiar rozmiarów i ich zmiany w czasie ciąży. W pracy zastosowano również wiele innych metod badawczych, m. in. pomiary antropometryczne, badania kwestionariuszowe i laboratoryjne analizy składu mleka. Metodologia opisana jest szczegółowo i w sposób bardzo jasny. Metodologia analiz statystycznych jest przedstawiona prawidłowo i z dostateczną precyzją opisu. Cytowana literatura zawiera wiele pozycji, głównie angielskojęzycznych, pochodzących z różnych dziedzin wiedzy.

Dyskusja jest napisana w sposób dojrzały wskazujący na dużą wiedzę Doktoratki i zdolność krytycznego myślenia zarówno w odniesieniu do własnych wyników, jak i do hipotez i wyników badań opisanych w literaturze.

Moja wysoka ocena pracy nie oznacza zupełnego braku uwag krytycznych. Mam nadzieję, że będą one pożyteczne przy przygotowaniu publikacji lub planowaniu kolejnych badań. Poniższe uwagi nie powinny być w żadnym wypadku traktowane jako zarzuty pomniejszające wartość pracy doktorskiej, lecz raczej jako dowód prawdziwego zainteresowania recenzentki ocenianą pracą.

1. Podając średnią zawartość tkanki tłuszczowej dla kobiet i mężczyzn Doktorantka opiera się na publikacji Clarys i wsp. z 1984 roku. Dane pochodzące z tej pracy trudno uznać za reprezentatywne dla ogółu populacji dorosłych ponieważ oparte są o analizy składu ciała bardzo małej liczby osób w wieku 55 do 95 lat.
2. Tzw. Hipoteza Frisch w pierwotnej wersji postulowała, że określony poziom otyłości jest konieczny do wystąpienia pierwszej miesiączki, a w późniejszych, że i do występowania cykli menstruacyjnych u dorosłych kobiet. Pomimo tego, że publikacje Frisch były wielokrotnie krytykowane (np. Johnston i in, 1971 i 1975, Trussell, 1978, Billewicz i in. 1976, Ellison, 1981), przede wszystkim ze względu na błędne analizy statystyczne, lub niewłaściwe wnioski z analiz, przekonanie, że określony procent zawartości tkanki tłuszczowej jest konieczny dla płodności wciąż pokutuje w literaturze. Doktorantka pisze o tym zarówno we Wstępie pracy, cytując Frisch z 1984 roku, oraz w Dyskusji, cytując dwie inne prace (Caro i Sellen, 1990; Mascia-Lees, 1986). W dziedzinie ekologii reprodukcyjnej człowieka zrobiono wiele badań, z których wynika, że otyłość ciała nie ma istotnego związku z płodnością. Co prawda u kobiet bardzo szczupłych i u kobiet otyłych obserwuje się supresję funkcji rozrodczych, ale wśród pozostałych kobiet nie ma takich zależności. Fizjologia reprodukcyjna jest natomiast bardzo wrażliwa na zmiany masy ciała i zawartości tkanki tłuszczowej. Nawet wśród kobiet z nadwagą utrata niewielkiej

liczby kilogramów skutkuje zmianami hormonalnymi, które obniżają szansę na zapłodnienie lub implantację.

3. Doktorantka pisze, że estrogeny mają działanie immunosupresyjne, nie popierając tego stwierdzenia literaturą. Natomiast estrogeny w większości przypadków działają stymulująco na układ immunologiczny (np. Gieffing-Kroll i in., "How sex and age affect immune responses, susceptibility to infections, and response to vaccination", *Aging Cell*, 2015: 14, pp309–321).

4. Ciąża u dobrze odżywionych kobiet powoduje zwiększenie metabolizmu podstawowego, ale np. w Gambii, wśród niedożywionych kobiet, w czasie ciąży obserwuje się obniżenie BMR (Prentice i Whitehead 1987). Czy w związku z tym, można oczekiwać, że kobiety w marnej kondycji mogą mieć mniejszą szansę na asymetrię piersi w czasie ciąży? Jak pogodzić tę obserwację z hipotezami pracy doktorskiej?

5. Nie do końca przekonująca jest jedna z hipotez badawczych, a mianowicie, że wielkość i symetria piersi będą korelować z niższym ryzykiem wystąpienia problemów zdrowotnych matki w czasie ciąży. Jednymi z najczęstszych problemów zdrowotnych w czasie ciąży są cukrzyca ciążowa i nadciśnienie. Ryzyko tych chorób jest większe u kobiet z nadwagą, lub wysokim przyrostem masy ciała w czasie ciąży. Wśród badanej grupy nie wykazano co prawda występowania cukrzycy i nadciśnienia, ale Doktorantka nie posiadała jeszcze tych danych na etapie tworzenia hipotez badawczych.

6. Kolejny problem związany jest z hipotezą zakładającą, że wielkość i symetria piersi będą korelować z niższym ryzykiem wystąpienia trudności okołoporodowych, kwalifikujących do porodu przez cesarskie cięcie. Niestety w Polsce cięcie cesarskie jest często wykonywane nawet wówczas, gdy nie ma konieczności stosowania tej metody. Dowodów na wykonywanie cięcia cesarskiego "na życzenie" dostarczają chociażby wyniki tej pracy. Wg. WHO około 10-15 % porodów kwalifikuje się do cięcia cesarskiego. Trudno w związku z tym uwierzyć, że prawie 50 % porodów wśród kobiet uczestniczących w badaniu odbyło się przez cesarskie cięcie ze wskazań medycznych. Albo ta grupa kobiet była wysoce nietypowa, albo nie chciały przyznać się do faktu, że cięcie cesarskie zostało przeprowadzone "na życzenie".

7. W pracy przedstawiono wiele starannie zaplanowanych i przeprowadzonych analiz statystycznych. W analizach objętość piersi i stopień asymetrii fluktuacyjnej piersi zostały potraktowane jako dwie nie powiązane ze sobą zmienne. Tymczasem ciekawe byłyby wyniki analiz testujących kondycję noworodka w zależności od asymetrii fluktuacyjnej, ale po uwzględnieniu w analizach zmiennej, którą jest objętość piersi. Złaszcza, że jak Doktorantka pisze we Wstępie pracy, asymetria może być większa w przypadku większych piersi. Obie zmienne są wskaźnikami atrakcyjności piersi i w związku z tym obie mogłyby być testowane razem w pojedynczej analizie.

8. Zaletą metodologiczną badań pracy doktorskiej jest precyzyjny pomiar wielkości piersi. Niewątpliwie jednak bardziej wiarygodne byłyby pomiary wykonywane

wszystkim kobietom w tych samych okresach ciąży, raczej niż pomiary wykonywane dla różnych osób w różnym czasie i potem standaryzowane. Ciekawie byłoby zobaczyć indywidualne zmiany w wielkości piersi w ciąży. Dla jakiej liczby kobiet dokonano pomiarów dokładnie w tych tygodniach, w których planowano (tn. 12, 22 i 32)? W Dyskusji Doktorantka pisze "objętość piersi wzrasta niemal liniowo i nie zaobserwowano istotnego zahamowania wzrostu pomiędzy drugim i trzecim trymestrem ciąży", ale obserwacja ta jest oparta na wartościach uśrednionych. W związku z tym, że w literaturze prawdopodobnie nie ma tak dobrych danych dotyczących zmiany wielkości piersi w czasie ciąży jak dane zebrane w tej pracy doktorskiej, mogłyby one posłużyć analizie międzyosobniczej zmienności w przyroście rozmiarów piersi.

9. W Dyskusji Doktorantka pisze "Wiadomo, że płody męskie podlegają silniejszej negatywnej selekcji wewnątrzmacicznej w porównaniu z płodami żeńskimi". Rzeczywiście do niedawna tak sądzono. Natomiast kilka miesięcy temu ukazała się praca, która podważa tę wiedzę. W oparciu o znakomite dane Orzack i in. dowodzą, że umieralność płodów żeńskich jest wyższa niż umieralność płodów męskich (Orzack i in. 2015, The human sex ratio from conception to birth. Proceedings of the National Academy of Sciences).

10. Nie do końca można zgodzić się ze stwierdzeniem, że "Kondycja urodzeniowa dziecka jest lepszym miernikiem kondycji biologicznej matki oraz jej możliwości inwestycji fizjologicznej w rozwijający się płód, niż liczba dzieci i wiek poczęcia pierwszego dziecka". Kobiety powinny mieć różne strategie rozrodcze w zależności od warunków środowiskowych. W warunkach kiedy przeżywalność potomstwa, zwłaszcza w pierwszych latach życia, jest niska ze względu na wpływ czynników zewnętrznych (np. chorób zakaźnych) inwestowanie w liczbę, a nie w jakość potomstwa może być bardziej korzystne dla sukcesu rozrodczego matki.

11. Myślę, że warto podejść krytycznie do hipotez dotyczących funkcjonalnej roli otluszczenia piersi u kobiet, sugerujących, że piersi funkcjonują jako magazyn tkanki tłuszczowej, służącej do zaspokojenia wymogów energetycznych ciąży i laktacji. Tłuszcz zgromadzony w obrębie piersi nie może funkcjonować jako magazyn tkanki tłuszczowej służącej do zaspokojenia wymogów energetycznych ciąży i laktacji, bo wymogi energetyczne tych inwestycji macicznych znacznie wykraczają poza poziomy energii, które mogłyby być uzyskane ze spalania zgromadzonej tkanki tłuszczowej. Tkanekę tłuszczową piersi można traktować jako zapas, który może być wykorzystany w sytuacjach wyjątkowych (tn. chwilowego braku dostępu do pożywienia), ale zapas ten jest zdecydowanie niewystarczający na pokrycie długoterminowych kosztów laktacji.

12. Doktorantka zastanawia się w pracy, czy "Być może analizowana próba nie była wystarczająco liczna". W związku z tym pojawia się pytanie, czy rozmiar próby był wystarczający, by wykryć statystycznie istotne zależności pomiędzy wielkością i asymetrią piersi a cechami noworodka, lub innymi analizowanymi w pracy zmiennymi.

13. Praca jest bardzo dobrze napisana, ale można mieć kilka uwag dotyczących terminologii. W kontekście, w którym słowo to jest używane powinno się mówić o “umieralności”, a nie o “śmiertelności”. Zamiast “ryzyka śmierci” powinno być “ryzyko zgonu”. W kilku fragmentach pracy nieprawidłowo pisana jest nazwa testu statystycznego. Nazwa powinna brzmieć “test Tukeya”. Poza tym, zamiast “tempo jest różne w zależności od kobiety” lepiej byłoby mówić o “zmienności międzyosobniczej”. Po tytule (pracy, rozdziału) nie stawia się kropki.

14. Prawdopodobnie liczba stopni swobody dla wyników ANOVY (np. str. 60) jest podana nieprawidłowo. Skoro w analizie porównywano 2 grupy, powinno być $F(1, XX)$, a nie $F(2, XX)$.

W podsumowaniu należy podkreślić, że praca doktorska wskazuje na pełne przygotowanie Doktorantki do dalszej samodzielnej kariery badawczej. Szkoda, że w Polsce nie istnieją dziedziny medycyny ewolucyjnej i ewolucyjnego zdrowia publicznego, ponieważ praca doktorska jest przykładem badań, które znakomicie wpisują się w te dziedziny.

Uważam, że praca Pani Agnieszki Żelaźniewicz jest bardzo wartościowym opracowaniem, spełniającym warunki stawiane ustawowo rozprawom doktorskim, zgodnie z obowiązującą Ustawą o Stopniach i Tytułach Naukowych. Prezentowany doktorat jest samodzielnym, nowatorskim dziełem naukowym o dużym znaczeniu poznawczym, z wzorowo dobraną i zastosowaną metodologią. Zwracam się do Szanownej Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Z całym przekonaniem wnioskuję również o wyróżnienie pracy.

Zakład Zdrowia i Środowiska UJ CM


prof. dr hab. Grażyna Jasieńska
Kierownik