

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr Barbary Borkowskiej
pt. „Morfologiczne i hormonalne mierniki maskulinizacji
a nieswoista odporność immunologiczna u mężczyzn”
napisanej pod kierunkiem prof. dr hab. Bogusława Pawłowskiego**

Podstawa opracowania recenzji

Podstawą opracowania recenzji jest pismo Dziekana Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego dr. hab. Dariusza Skarżyńskiego z dnia 4 kwietnia 2018 r. w sprawie powierzenia mi obowiązków recenzenta rozprawy doktorskiej Pani mgr Barbary Borkowskiej.

Tytuł i temat rozprawy

Pani magister Barbara Borkowska przedstawiła rozprawę doktorską w formie monografii pod tytułem „Morfologiczne i hormonalne mierniki maskulinizacji a nieswoista odporność immunologiczna u mężczyzn”. Ponieważ temat pracy jest bezpośrednio związany ze zdrowiem człowieka, ma on znaczenie praktyczne. Podjęty temat ma też duże znaczenie poznawcze: związki pomiędzy natężeniem cech płciowych a sprawnością układu odpornościowego i stanem zdrowia są od kilkudziesięciu lat badane u zwierząt, a ich celem jest lepsze poznanie funkcji hormonów płciowych i zrozumienie mechanizmów ewolucji cech płciowych. W ostatnich latach pojawia się coraz więcej takich badań prowadzonych na człowieku, wciąż jednak jest ich niewiele, a ich wyniki są niespójne. Doktorantka podjęła więc w swojej pracy zagadnienie ważne i wpisujące się w aktualne trendy badawcze, ale wciąż słabo zbadane.

Treść rozprawy

Układ pracy jest typowy dla prac empirycznych. W **części wstępnej** Doktorantka krótko przedstawia tło teoretyczne swojego badania, mianowicie ewolucyjną hipotezę upośledzenia autorstwa Amona Zahaviego oraz opartą na niej hipotezę upośledzenia immunologicznego sformułowaną przez Folstada i Kartera. Następnie Autorka omawia trzy grupy cech, których współzależnościami jest zainteresowana: morfologiczne cechy płciowe, stężenie męskich hormonów płciowych oraz przejawy aktywności układu odpornościowego ze szczególnym uwzględnieniem odporności nieswoistej. W dalszej kolejności Doktorantka dokonuje przeglądu literatury dotyczącej związków pomiędzy cechami płciowymi i stężeniem hormonów a zdrowiem i aktywnością układu odpornościowego u zwierząt oraz u ludzi.

Po części wstępnej Autorka pracy formułuje **cel pracy**. Cel ten wynika wprost w tytule rozprawy i jest nim zbadanie związków pomiędzy stopniem maskulinizacji młodych mężczyzn a sprawnością wybranych nieswoistych mechanizmów odporności immunologicznej, przy czym maskulinizacja obejmuje zarówno aspekt morfologiczny jak i hormonalny – poziom męskich hormonów płciowych.

W kolejnej części pracy zatytułowanej **Metody**:

- scharakteryzowano próbę badawczą, opisano kryteria wykluczania elementów próby z analizy, podano odpowiednie liczebności,
- przedstawiono procedurę badania (w tym harmonogram), technikę pomiarów morfologicznych oraz zarys laboratoryjnych analiz krwi mających na celu oznaczenie poziomu hormonów i parametrów odporności immunologicznej,
- opisano szereg cech, które badano jako potencjalne kozmienne,
- omówiono zastosowane analizy statystyczne.

Analizę statystyczną wykonano na danych pochodzących od 105 mężczyzn w wieku 19-37 lat.

Podstawowymi zmiennymi były:

- wskaźnik barkowo-biodrowy (SHR) liczony jako iloraz szerokości między wyrostkami barkowymi łopatek i szerokości bioder mierzonej na poziomie grzebieni biodrowych,
- odsetek masy mięśni w ciele oszacowany metodą bioimpedencji,
- stężenie we krwi testosteronu całkowitego, testosteronu wolnego oraz dihydrotestosteronu (DHT),
- cztery miary odporności nieswoistej: aktywność dopełniacza, aktywność lizozymu, pochłanianie przez neutrofile i wybuch tlenowy neutrofile.

Wśród potencjalnych kozmiennych były: wiek, wskaźnik masy ciała (BMI), poziom cholesterolu we krwi, częstość palenia papierosów, ilość spożywanego alkoholu, aktywność fizyczna, stosowanie diet odchudzających, długość snu i poziom stresu psychicznego.

Analiza statystyczna objęła przede wszystkim metody regresyjne: analizy regresji jednozmiennowe i wielozmiennowe (wielokrotne), liniowe i kwadratowe, a także regresję segmentową. Zwracano uwagę na rozkłady zmiennych; jeśli nie były normalne, to próbowano je transformować do normalnych, a gdy to się nie powiodło, to używano testów nieparametrycznych. Identyfikowano też przypadki odstające i eliminowano je z analiz.

Kolejny rozdział zaznajamia czytelnika z **wynikami** badania. Zaobserwowano kilka zależności istotnych statystycznie na poziomie 0,05. Mianowicie, poziom testosteronu wolnego oraz poziom DHT ujemnie korelowały z efektywnością pochłaniania przez neutrofile, a poziom DHT dodatnio korelował z ilością reaktywnych form tlenu wytwarzanych przez neutrofile (czyli z siłą wybuchu tlenowego). Ponadto poziom testosteronu całkowitego dodatnio korelował z ogólnym wskaźnikiem odporności nieswoistej obliczonym na podstawie czterech parametrów składowych. Zastosowanie regresji kwadratowej, segmentowej i kontrola potencjalnych kozmiennych nie zmieniły tych wyników. Żadna analiza nie wykazała związku cech morfologicznych z miarami odporności immunologicznej. Nie stwierdzono też interakcji zmiennych morfologicznych i hormonalnych w ich wpływie na zmienne immunologiczne.

W **Dyskusji** Doktorantka krótko przypomina metodykę badania i uzyskane wyniki, zastanawia się nad przyczynami uzyskania określonych wyników i omawia ograniczenia przeprowadzonego badania. Jako możliwe powody braku wpływu cech morfologicznych na zmienne immunologiczne Autorka rozważa niedokładność pomiarów, zmiany tych cech z wiekiem, pomiar niewłaściwej zmiennej (np. ogólnego umięśnienia ciała zamiast umięśnienia górnej części ciała) oraz brak pomiaru niektórych cech (np. maskulinizacji twarzy i głosu). Doktorantka dyskutuje też możliwe przyczyny niewielkiej liczby istotnych związków pomiędzy zmiennymi hormonalnymi a immunologicznymi oraz różne kierunki tych związków – dodatnie i ujemne. Przyczyną taką może być przekształcanie testosteronu w estradiol (a więc hormon o złożonym, i innym niż testosteron, wpływie na układ odpornościowy) lub odmienny wpływ androgenów na poszczególne składowe nieswoistej reakcji odpornościowej. Do ograniczeń własnego badania Autorka pracy zalicza: po pierwsze niedokładności pomiarów niektórych parametrów immunologicznych wynikające z różnego odstępu czasu pomiędzy pobraniem krwi a jej analizą; po drugie, brak kontroli spożywania niektórych farmaceutyków; po trzecie, ograniczenie się do pomiaru wskaźników tylko nieswoistej odpowiedzi immunologicznej; i po czwarte, przeprowadzenie badania na osobach zdrowych, nie cierpiących na niedożywienia, pochodzących z populacji o niskiej częstości chorób pasożytniczych.

Po Dyskusji znajduje się spis piśmiennictwa liczący 484 pozycje, jednostronicowe streszczenia pracy – po polsku i po angielsku, oraz Aneks, który zawiera wzory formularzy wypełnianych przez uczestników badania oraz szczegółowy opis metodyki pomiaru parametrów odpornościowych.

Ocena rozprawy

Pracę doktorską przedstawioną przez Panią Barbarę Borkowską oceniam jako **ogólnie dobrą**.

Dostrzegam następujące **mocne strony** pracy:

1. Temat pracy i jej cele są klarownie sformułowane, a treść pracy jest ich poprawną realizacją.
2. Praca zawiera istotne elementy nowatorskie: po pierwsze, badano nie tylko poziom testosteronu całkowitego – jak to czyniono w wielu poprzednich badaniach – lecz także poziom testosteronu wolnego i dihydrotestosteronu; po drugie, analizowano parametry *nieswoistej* odpowiedzi immunologicznej, podczas gdy dotychczas badana była odpowiedź swoista lub określano stan zdrowia.
3. Zastosowane metody badawcze są adekwatne do postawionego celu. Doktorantka wykazuje się dobrą znajomością zastosowanych metod. Przy analizie statystycznej zwracała uwagę na rozkład zmiennych, punkty odstające i korelację między zmiennymi objaśniającymi, co nie zawsze ma miejsce w pracach przyrodniczych.
4. Doktorantka przedstawia swoje myśli w sposób klarowny, przeprowadza logiczne rozumowania, zgodne ze standardami naukowymi. Swoje tezy potrafi uzasadniać trafnie powołując się na literaturę, ale jednocześnie pozostaje krytyczna wobec cudzych badań wskazując na ich ograniczenia, takie jak mała liczebność próby lub brak istotnych informacji (np. o kontrolowanych zmiennych).
5. Liczba pozycji w spisie piśmiennictwa wynosząca niemal pół tysiąca jest bardzo duża. Bogato cytowana jest literatura dotycząca męskich hormonów płciowych, układu odpornościowego,

antropometrii, badań nad związkami pomiędzy maskulinizacją a zdrowiem u ludzi i zwierząt, a także literatura dotycząca analizy statystycznej. Świadczy to o dużym nakładzie pracy poświęconej przez Doktorantkę na zapoznanie się z literaturą.

6. Od strony formalnej praca jest bardzo dobra: całość jest estetycznie sformatowana, język jest zgrabny, nie rzuciły mi się w oczy żadne literówki, tabele i rysunki są czytelne i zrozumiałe, strona tytułowa, spis treści oraz spis piśmiennictwa nie budzą zastrzeżeń.
7. Za sukces Badaczki należy uznać to, że udało się Jej namówić 134 mężczyzn na nieodpłatne uczestnictwo w badaniu, w tym na dwukrotne pobranie krwi.

Pomimo ogólnie dobrego wrażenia, jakie robi oceniana rozprawa doktorska, mam do niej szereg **uwag krytycznych**, z których dwie mają charakter ogólny i z tego powodu są szczególnie ważne.

Po pierwsze – **niedostatek piśmiennictwa** teoretycznego. Jeżeli tematem pracy są zależności pomiędzy męskimi cechami płciowymi a zdrowiem i sprawnością układu odpornościowego, to w sposób naturalny pojawiają się dwa pytania: jakie są teoretyczne przewidywania co do takich zależności (tzn. czy takich zależności należy się spodziewać, a jeśli tak, to jaki powinien być ich kierunek) oraz jakie są wyniki dotychczasowych badań. Autorka pracy powołując się na pracę Braudego i współautorów stwierdza (w jednym zdaniu), że na gruncie teoretycznym można spodziewać się zarówno dodatnich jak i ujemnych związków pomiędzy maskulinizacją ciała a sprawnością immunologiczną, i wyciąga z tego wnioski, że w Jej badaniu nie można postawić hipotezy co do kierunku takiego związku. To za mało. Istnieją prace teoretyczne, w których przedstawiono matematyczne modele związków pomiędzy natężeniem cech płciowych a przeżywalnością osobników (np. Thomas Getty, 2002, Signaling health versus parasites. *American Naturalist*, 159, 363-371; Hanna Kokko, 2001, Fisherian and “good genes” benefits of mate choice: How (not) to distinguish between them. *Ecology Letters*, 4, 322-326). Modele te rzeczywiście przewidują, że wspomniane zależności mogą być dodatnie, ujemne lub zerowe, ale zależy to od wartości konkretnych parametrów lub kształtu funkcji wiążących poszczególne parametry (np. wielkość cechy płciowej z atrakcyjnością i sukcesem partnerskim). Warto było zastanowić się, jakie przewidywania wynikają z tych modeli dla gatunku ludzkiego, ewentualnie dla różnych społeczeństw ludzkich różniących się wartościami określonych parametrów lub systemem kojarzenia. Możliwe, że w odniesieniu do gatunku ludzkiego lub konkretnie do badanej populacji można przedstawić hipotezę co do kierunku zależności. Na pewno kwestia ta wymagała przedyskutowania w pracy. Ponadto, oprócz przytaczania wyników kilkudziesięciu badań nad zależnością między cechami płciowymi a zdrowiem i cechami układu odpornościowego warto było podać wyniki odnośnych metaanaliz (np. Michael Jennions et al., 2001, Sexually selected traits and adult survival: A meta-analysis. *Quarterly Review of Biology*, 76, 3-36; Zofia Prokop et al., 2012, Meta-analysis suggests choosy females get sexy sons more than “good genes”. *Evolution*, 66, 2665-2673).

Druga uwaga ogólna dotyczy prawdopodobieństwa popełnienia **błędu pierwszego rodzaju** we wnioskowaniu statystycznym. W ocenianej pracy wszystkie hipotezy zerowe odrzucano przy poziomie istotności równym 0,05. Oznacza to, że jeśli hipoteza zerowa (np. o braku korelacji) jest trafna to i tak istnieje ryzyko równe 0,05 (5%), że hipoteza ta zostanie – błędnie – odrzucona. Jest

to tzw. ryzyko popełnienia błędu pierwszego rodzaju i standardowo jest ono w testach statystycznych ustawiane właśnie na poziomie 0,05. Sytuacja zmienia się przy wykonywaniu serii testów statystycznych. W recenzowanej pracy taką serią były testy zależności miar maskulinizacji z parametrami odpornościowymi. Było 5 miar maskulinizacji (2 wskaźniki morfologiczne i 3 hormonalne) oraz 4 parametry odpornościowe, co daje $5 * 4 = 20$ testów statystycznych. Jeżeli dla każdego z nich ryzyko popełnienia błędu pierwszego rodzaju wynosi 0,05, to przy serii 20 testów można się spodziewać popełnienia statystycznie około 1 błędu ($20 * 0,05$). Jeśli dodatkowo policzyć testy wykonane dla łącznego wskaźnika odporności (co daje razem 25 testów), to spodziewana liczba błędów staje się jeszcze większa. Są różne metody radzenia sobie z tym problemem; zwykle obniża się poziom istotności, np. wartością krytyczną staje się 0,01 zamiast 0,05. Niestety, Doktorantka nie zastosowała żadnego zabezpieczenia przed rosnącym ryzykiem wspomnianego błędu. Z 25 testowanych efektów, 4 okazały się istotne statystycznie na poziomie 0,05, ale tylko 1 na poziomie 0,01. Te 3 zależności, dla których wartość p była między 0,01 a 0,05, z dużym prawdopodobieństwem mogły pojawić się *przez przypadek* (zgodnie z rosnącym ryzykiem błędu pierwszego rodzaju). Zależności te są więc bardzo niepewne. Jedynym wynikiem, który jest dość przekonujący, jest związek stężenia dihydrotestosteronu z siłą wybuchu tlenowego. Efekty losowo pojawiające się w próbie mają losowy kierunek – dodatni lub ujemny. Zgodnie z tym, z 4 efektów zaobserwowanych w pracy, 2 były dodatnie i 2 ujemne. Fakt ten wzmacnia wątpliwości co do przyczyn zaobserwowania tych efektów. Kwestia niepewności uzyskanych wyników powinna omówiona w Dyskusji. Tymczasem Doktorantka nie wspomina o tym ani słowem.

W kontekście niepewności wyników pojawia się jeszcze jedna kwestia. Od uczestników badania krew pobierano dwukrotnie i dla obu próbek krwi oznaczano parametry hormonalne i immunologiczne (z wyjątkiem efektywności pochłaniania przez neutrofile, które oznaczane było tylko dla pierwszej próbki). Natomiast kluczowe hipotezy (dotyczące związku maskulinizacji z odpornością) testowano tylko w oparciu o dane z **pierwszej próbki krwi**. Pominięcie danych z drugiej próbki jest zagadkowe. Analiza przeprowadzona dla danych z drugiej próbki przypuszczalnie wniosłaby coś do problemu niepewności efektów uzyskanych dla pierwszej próbki. Gdyby dla drugiej próbki obecne byłyby takie same efekty jak dla pierwszej, to wspierałoby to tezę, że wyniki zaobserwowane w próbach odzwierciedlają efekty faktycznie obecne w populacji. Gdyby natomiast wyniki dla drugiej próbki krwi nie były zgodne z tymi uzyskanymi dla pierwszej, wspierałoby to tezę o przypadkowym charakterze efektów z pierwszej próbki. Warto też było wykonać analizę statystyczną dla parametrów hormonalnych i immunologicznych uśrednionych z dwóch próbek. Skoro powtarzalność tych parametrów jest znacząco mniejsza niż 1,0, to wartość średnia z pomiarów jest lepszym przybliżeniem wartości rzeczywistej niż wartość dowolnego pojedynczego pomiaru. Brak danych o pochłanianiu przez neutrofile dla drugiej próbki krwi nie jest przeszkodą dla wykonania odpowiednich analiz dla pozostałych parametrów oznaczonych z tej próbki.

Po przedstawieniu uwag ogólnych przejdę do **uwag bardziej szczegółowych** i o mniejszym znaczeniu.

Uwagi do rozdziału Wprowadzenie:

1. Cechy takie jak badany w pracy wskaźnik barkowo-biodrowy i stopień umięśnienia są nazywane przez Autorkę trzeciorzędowymi cechami płciowymi. Autorka argumentuje, że taka terminologia jest używana w literaturze polskojęzycznej, w odróżnieniu od anglojęzycznej, która cechy te zalicza do drugorzędowych. Zaskakuje tutaj przywołanie jako źródła opracowania dotyczącego mumifikacji i opublikowanego w materiałach pokonferencyjnych. Co ważniejsze, w literaturze polskiej częste są klasyfikacje zaliczające wspomniane cechy morfologiczne do drugo- a nie trzeciorzędowych (np. Andrzej Malinowski, 2007, *Auksologia*, str. 224; Bogusław Pawłowski (red.), 2009, *Biologia atrakcyjności człowieka*, str. 18). Uważam, że z uwagi na zgodność z terminologią anglojęzyczną oraz przynajmniej częściową zgodność z terminologią polskojęzyczną lepiej byłoby w pracy nazywać te cechy drugorzędowymi.
2. Brakuje uzasadnienia, dlaczego jako miary morfologicznej maskulinizacji wybrano akurat wskaźnik barkowo-biodrowy i stopień umięśnienia ciała oszacowany metodą bioimpedancji.
3. Na stronie 7 błędnie podano, że wskaźnik SHR to „stosunek wymiarów ramion i bioder”. W pozostałych miejscach pracy SHR jest poprawnie opisywany jako stosunek wielkości barków do bioder.

Uwagi do rozdziału Metody:

1. Autorka podaje bardzo mało informacji o miejscu badania (np. w jakiej miejscowości zbierano dane?) i o sposobie rekrutacji uczestników.
2. Opisując procedury badawcze (pobieranie krwi, szczepienie przeciw grypie, zbieranie pozostałych danych, analizy laboratoryjne, analizę statystyczną) Doktorantka używa form bezosobowych („zrobiono, zmierzono, obliczono” itd.) i nie podaje wykonawców tych czynności. Z tego powodu Czytelnikowi trudno jest ustalić, które czynności zostały wykonane przez Autorkę pracy, a które przez inne osoby.
3. Doktorantka mierzyła poziom stresu m.in. za pomocą kwestionariusza PSS. W celu wyróżnienia dwóch kategorii poziomu stresu, podzieliła zakres możliwych wyników testu na dwa przedziały o (mniej więcej) równych długościach: 0-20 i 21-40. Taki arbitralny podział Autorka uzasadnia brakiem ustalonych kategorii tej zmiennej w odnośnej literaturze. Podział ten jednak doprowadził do powstania kategorii o bardzo nierównych liczebnościach, co jest niekorzystne z punktu widzenia testów statystycznych, ponieważ obniża moc tych testów. W takich sytuacjach lepszym rozwiązaniem jest wyróżnienie kategorii według wartości mediany. Wówczas liczebności kategorii są równe a moc przeprowadzanych testów – maksymalna.
4. Szereg uwag można mieć do podrozdziału *Metody statystyczne*. Brakuje w nim istotnych informacji, a kolejność treści jest chaotyczna.

- a) W drugim akapicie jest mowa o analizie regresji, potem opisywany jest sposób kodowania zmiennych, przewija się korelacja Spearmana i Pearsona, by znów pojawiła się analiza regresji.
- b) W pierwszym akapicie podano metody użyte do sprawdzenia, czy jest potrzeba kontrolowania określonych zmiennych. Ale już w dalszych akapitach nie objaśniono, w jakim celu będą wykonywane testy, które opisano, ani dla jakich zmiennych (w tym, jakie będą zmienne zależne i niezależne).
- c) Zmienne dychotomiczne często są nazywane porządkowymi; fakt ten byłby łatwiejszy do zaakceptowania, gdyby nie to, że zmienne te analizowane są jak zmienne dychotomiczne / nominalne, np. stanowią zmienną grupującą w testach t-Studenta (por. pierwszy akapit).
- d) Niejasne jest dla mnie, dlaczego picie alkoholu – jako jedyna cecha – zostało zakodowane w formie trzech a nie dwóch kategorii. Zmienne trychotomiczne są niewygodne do analizy statystycznej, co potwierdziło się w recenzowanej pracy: na potrzeby analizy regresji picie alkoholu zakodowano w formie trzech tzw. zmiennych ślepych, przez co utracono porządkowy charakter zmiennej, skomplikowano model regresji i utracono trzy stopnie swobody. Chyba lepiej było utworzyć dla tej cechy – podobnie jak dla pozostałych – zmienną dychotomiczną.
- e) Wskaźnik BMI jest zmienną ilościową, ale tekst pracy w jednym miejscu sugeruje, że jest to zmienna jakościowa: u góry strony 35 jest informacja, że „zmienne jakościowe (...) przekształcono na zmienne zero-jedynkowe”, a jako pierwszy przykład takiej cechy podano BMI.
- f) Chyba zbyt pochopnie rezygnowano z przeprowadzenia analizy regresji, gdy rozkład zmiennych okazywał się nie-normalny i nie stawał się po transformacji. Choć w analizie regresji zmienne powinny mieć rozkład normalny, to niewielkie odstępstwa od normalności (nawet jeśli są istotne statystycznie) nie wypaczają wyników wnioskowania statystycznego. Wielkość odstępstwa od rozkładu normalnego można ocenić wizualnie, np. oglądając wykresy prawdopodobieństwa (ang. P-P plot, Q-Q plot).
- g) Mam też wątpliwości, czy w pracy była potrzeba przeprowadzenia regresji segmentowej. Zależności nieliniowe testowano (słusznie) za pomocą regresji kwadratowej. Przeprowadzenie regresji segmentowej byłoby zasadne, gdyby istniały jakieś przesłanki, że istnieje tzw. punkt przełamania, np. przesłanki teoretyczne, wyniki innych badań empirycznych, określony układ punktów empirycznych na wykresach rozrzutu lub zależność nieliniowa wykazana w analizie regresji kwadratowej. Takich przesłanek chyba jednak nie było.

Uwagi do rozdziału Wyniki:

1. Równaniu regresji, w której występuje jakaś zmienna oraz kwadrat tej zmiennej, są w nagłówkach tabeli 7, 9, 11, 13 i 15 nazywane regresjami liniowymi. Choć użyty tutaj model regresji kwadratowej może zostać matematycznie przekształcony do formy liniowej, to

nazywanie w pracy biologicznej takiej regresji liniową jest co najmniej mylące, ponieważ chodzi tu o wykrycie *nieliniowej* zależności między zmiennymi.

2. W nagłówkach tabel powinno obowiązywać jednolite, konsekwentne nazewnictwo zmiennych w regresji: „zmienna zależna i niezależna” albo „zmienna objaśniana i objaśniająca”. W tabelach 6-15 terminologia ta jest niejednolita. Podobnie, w nagłówkach tabel konsekwentnie powinno być używane wyrażenie „podniesiona do kwadratu” lub „podniesiona do potęgi drugiej”.
3. W tabelach z wynikami analiz regresji są podane, jak sądzę, standaryzowane, a nie surowe, współczynniki regresji. Powinno to być wprost zakomunikowane czytelnikowi, ponieważ nagłówek kolumny tabeli o treści „ β ” nie rozstrzyga tej kwestii, a wręcz może sugerować, że jest to surowa wartość współczynnika regresji.

Uwagi do rozdziału Dyskusja:

1. Przy okazji porównywania własnych wyników z wynikami innych badań Doktorantka informuje (str. 51), że w niniejszej próbie związek umięśnienia ciała z liczbą leukocytów był nieistotny statystycznie i podaje kilka parametrów statystycznych opisujących go. Myślę, że jeśli w niniejszym badaniu określano liczebność komórek o znaczeniu odpornościowym, to wyniki analizy ich związków z miarami maskulinizacji powinny zostać zaprezentowane w rozdziale z wynikami. Tym bardziej, że do wyników właśnie tych analiz Autorka odwołuje się w Dyskusji.
2. Doktorantka rozważa różne powody tego, że Lassek i Gaulin zaobserwowali istotny związek umięśnienia ciała z liczbą leukocytów, a w niniejszej próbie związek ten był nieistotny (str. 51). Nie podaje jednak powodu najbardziej prawdopodobnego, którym jest różna wielkość próby. Próba Lasska i Gaulina liczyła niemal 5 tysięcy mężczyzn, podczas gdy w niniejszym badaniu analiza objęła 105 mężczyzn. W badaniu Lasska i Gaulina współczynnik korelacji pomiędzy liczbą leukocytów a beztłuszczową masą ciała równy był 0,160, a pomiędzy liczbą leukocytów a masą mięśni kończyn wyniósł 0,127. Tego rzędu korelacje nie są łatwe do wykrycia w próbie o liczebności rzędu stu. Konkretnie: dla liczebności próby równej 105 i przy poziomie istotności (wartości alfa) równym 0,05, prawdopodobieństwo wykrycia takich korelacji (czyli moc testu) wynosi odpowiednio 0,374 i 0,254. Zatem w niniejszym badaniu zdecydowanie większe było prawdopodobieństwo uzyskania nieistotnej korelacji umięśnienia z liczbą leukocytów niż istotnej; i taką też, nieistotną, korelację uzyskano. Uwaga ta odnosi się też do innych badanych związków pomiędzy miarami maskulinizacji i odporności. Autorka w ogóle nie wspomina o tym problemie; również w końcowej części pracy poświęconej ograniczeniom badania.
3. W jednym miejscu pracy (str. 51) Autorka używa określenia „pozytywna korelacja”. Powinno być „dodatnia korelacja”. Tak podają polskojęzyczne podręczniki statystyki. Wprawdzie po angielsku korelacje określa się jako „positive” i „negative”, ale podobnie też określa się liczby, a nikt w Polsce nie powie „liczby pozytywne i negatywne” zamiast „liczby dodatnie i ujemne”. W innych miejscach pracy używana jest poprawna terminologia.

Uwagi do Streszczenia:

1. Doktorantka stwierdza, że hipoteza Folstada i Kartera (hipoteza upośledzenia immunologicznego) jest rozszerzeniem hipotezy Zahaviego (hipotezy upośledzenia). Raczej jest uszczegółowieniem, ponieważ koncepcja Zahaviego mówi ogólnie o kosztach związanych z niektórymi sygnałami (np. męskimi cechami płciowymi), a hipoteza Folstada i Kartera skupia się na jednym rodzaju kosztów – obniżonej sprawności układu odpornościowego.
2. Ze spostrzeżenia, że maskulinizacja mężczyzn jest atrakcyjna (preferowana), Autorka pracy wyciąga wniosek, że „maskulinizacja u mężczyzn sygnalizuje posiadanie genów korzystnych dla potomstwa”. Wniosek taki jest nieuprawniony, ponieważ preferencja dla cech płciowych wynika z potrzeby rozróżniania płci połączonej ze sposobem działania układu nerwowego. Pokazały to badania przeprowadzone na sztucznych sieciach neuronowych (Enquist M, Arak A, 1993, Selection of exaggerated male traits by female aesthetic senses. *Nature*, 361, 446-448) i na zwierzętach (Forkman B, Enquist M, 2000, A method for simulating signal evolution using real animals. *Ethology*, 106, 887-897; Ghirlanda S, Jansson L, Enquist M, 2002, Chickens prefer beautiful humans. *Human Nature*, 13, 383-389). Teza, że „maskulinizacja u mężczyzn sygnalizuje posiadanie genów korzystnych dla potomstwa” może być prawdziwa (i prawdopodobnie w jakimś stopniu jest), ale *nie wynika* ona z faktu, że kobiety preferują zmaskulinizowanych mężczyzn.

Pozostałe uwagi:

1. Kolejność pozycji w spisie piśmiennictwa nie jest alfabetyczna, lecz zgodna z kolejnością ich cytowania w tekście pracy. Przy tak dużej liczbie cytowanych prac nie wydaje się to dobrym rozwiązaniem, ponieważ utrudnia odszukiwanie w spisie prac według nazwiska autora.
2. Niektóre podrozdziały mogłyby posiadać krótsze tytuły, często też bardziej zgodne ze standardami, np. zamiast „Dobór próby badawczej” mogłoby być po prostu „Próba” (tym bardziej, że treścią tego podrozdziału jest nie tyle „dobór” próby, ile charakterystyka zebranej próby), zamiast „Procedura badania” mogłoby być „Procedura”, zamiast „Potencjalne ograniczenia pracy” – „Ograniczenia pracy”, zamiast „Metody statystyczne” – „Analiza statystyczna”.

Wnioski

Praca doktorska przedstawiona przez Panią mgr Barbarę Borkowską opisuje dobrze zaplanowane i poprawnie przeprowadzone badanie nad związkami pomiędzy stopniem maskulinizacji mężczyzn a sprawnością ich układu odpornościowego. Tematyka ta jest jeszcze słabo zbadana, a przeprowadzone badanie odznacza się istotnymi elementami nowatorskimi. Sam manuskrypt jest zadowalający pod względem merytorycznym i formalnym. Doktorantka posiada dobrą znajomość literatury tematu, potrafi wykonywać badania empiryczne i przeprowadzać krytyczną dyskusję naukową.

Słabości recenzowanej pracy wskazane przeze mnie powyżej wynikają po części z tego, że ani literatura teoretyczna ani empiryczna nie daje jednoznacznej odpowiedzi na pytanie o kierunek

związku pomiędzy maskulinizacją a zdrowiem, oraz z tego, że trudno w pojedynczym badaniu uzyskać próbę o liczebności pozwalającej wykrywać efekty, które są słabe w sensie statystycznym. Dlatego ważne jest, by wyniki takich badań jak te Pani Borkowskiej zostały opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym i mogły w przyszłości wejść do metaanaliz, które mają szansę udzielić bardziej jednoznacznych odpowiedzi na postawione pytania badawcze.

Według Ustawy o stopniach naukowych „Rozprawa doktorska (...) powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego (...) oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej (...) oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej (...)” (Ustawa o stopniach naukowych z 2016 r., Art. 13 ust. 1). Uważam, że **recenzowana rozprawa doktorska spełnia te wymagania i wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Barbary Borkowskiej do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.**

Dr hab. Krzysztof Kościński