

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

Kraków, 7 czerwca 2016

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Judyty Nowak
**Morfologiczne mierniki kondycji biologicznej a swoista odporność
immunologiczna**

Rozprawa doktorska Pani mgr Judyty Nowak została napisana w Katedrze Biologii Człowieka Uniwersytetu Wrocławskiego pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Bogusława Pawłowskiego i promotorki pomocniczej Pani dr Darii Augustyniak.

Autorka podjęła się próby zbadania czy cechy związane z doborem płciowym (preferowane i uznawane za atrakcyjne przez płć przeciwną) są rzetelnymi wskaźnikami jakości osobnika, czy też, alternatywnie, posiadanie tych, często kosztownych, cech prowadzi do powstania kompromisów (trade-offs) z innymi cechami. Obie hipotezy są proponowane w literaturze, ale jak dotychczas badania nie dostarczyły wyników pozwalających przyjąć którąkolwiek z tych hipotez. Obie hipotezy są omówione w pracy, a Autorka jako cel pracy przyjęła testowanie hipotezy proponującej, że cechy związane z doborem płciowym będą pozytywnie korelować z jakością osobnika, wybierając kondycję immunologiczną jako marker jakości. Potwierdzenie tej hipotezy (lub jej zdecydowane odrzucenie) byłoby ważnym wkładem w dziedziny nauki oparte o teorię historii życia. Ponadto wyniki pracy mogłyby mieć znaczenie praktyczne w dziedzinach związanych ze zdrowiem człowieka, oraz w medycynie ewolucyjnej. W związku z powyższym wybór tematu pracy oceniam wysoko. Dodatkowo, zarówno cechy związane z doborem płciowym (tj. wskaźnik barkowo-biodrowy, wysokość ciała, oraz poziom asymetrii fluktuacyjnej ciała), jak i mierniki kondycji immunologicznej (tj. ilościowe i jakościowe parametry odporności swoistej organizmu) wybrane przez Autorkę są oryginalne, w większości nie powielają poprzednich badań i ich wybór jest dobrze uzasadniony merytorycznie. Ponadto, Autorka w przekonujący sposób uzasadnia wybór badanej grupy, tzn. mężczyzn, dowodząc metodologicznej przewagi takiego wyboru w stosunku do wyboru do badania zwierząt (gdzie ocena stanu zdrowia jest trudniejsza niż u człowieka), lub kobiet (gdzie zmienność związana z cyklicznością produkcji hormonów płciowych może utrudniać badanie lub wręcz zaburzać jego wyniki).

Od strony edytorskiej praca jest w większości dobrze napisana. Przegląd literatury we wstępie pracy jest logiczny i uporządkowany. Omawiane zagadnienia są

przedstawione w postaci rozdziałów i podrozdziałów. Wstęp do pracy jest napisany w sposób przejrzysty, a przedstawione zagadnienia poparte są bogato cytowaną literaturą. Bibliografia zawiera wiele pozycji, głównie angielskojęzycznych, pochodzących z różnych dziedzin wiedzy. Ponieważ pozycje literatury wymienione w spisie bibliografii nie są numerowane dokładnie nie wiadomo ile ich jest, ale można szacować ich liczbę na ponad 350. Pomimo tej imponującej liczby pozycji literatury, zdarzają się stwierdzenia, gdzie brak jest odpowiedniej cytacji (np. hipoteza genów pleiotropowych jako sposób wyjaśnienia dlaczego wysokość ciała jest cechą związaną z atrakcyjnością, str. 118). Metodologia pracy opisana jest szczegółowo i w sposób bardzo jasny.

Dyskusja nie jest napisana tak dobrze jak Wstęp od strony edytorskiej i powinna być napisana w sposób ułatwiający czytelnikowi śledzenie argumentów Autorki. W obecnej formie Dyskusja składa się z długich rozdziałów (nawet ponad 8 stron), których treść z rzadka tylko podzielona jest akapitami. W pracy zdarzają się również drobne błędy literowe, ale jest ich niewiele i nie utrudniają jej czytania. W pracy pojawiają się również sformułowania zbyt potoczne lub niecałkowicie precyzyjne. Zdanie ze strony 82 "Silne immunosupresyjne działanie nikotyny i alkoholu skłoniło nas do kontroli palenia tytoniu i częstości spożywania alkoholu" ilustruje ten problem. To nie działanie nikotyny i alkoholu skłoniły Autorkę do podjęcia pewnych decyzji, tylko wiedza lub znajomość wyników badań na temat immunosupresyjnego działania tych substancji. Sformułowanie "skłoniło nas do kontroli palenia tytoniu i częstości spożywania alkoholu przez uczestników" też nie jest precyzyjne. Nie kontrolowano przecież palenia tytoniu i częstości spożywania alkoholu przez uczestników, tylko raczej uwzględniono dane dotyczące występowania tych zachowań w przeprowadzonych analizach statystycznych. Oczywiście czytelnik domyśla się bez większych problemów co Autorka chciała powiedzieć, ale w pracy naukowej można spodziewać większej precyzji opisu. Dodatkowo w pracach naukowych przyjęta jest forma bezosobowa, czyli na przykład "w analizach uwzględniono" zamiast "skłoniło nas".

Cel pracy jest sformułowany poprawnie. Obok celu przedstawione są również szczegółowe hipotezy badawcze.

Dodatkowe uwagi

- Protokół badania zakładał kontrolę wielu czynników mogących potencjalnie zakłócić jego wyniki, zarówno na etapie rekrutacji, jak i analiz. Wśród kryteriów warunkujących uczestnictwo w badaniu powinny być uwzględnione czynniki mogące wpływać na poziom testosteronu. Z badania powinni być wyłączeni mężczyźni stosujący jakąkolwiek suplementację testosteronem lub suplementację mogącą wpływać na poziom tego hormonu. Powinni być również wyłączeni mężczyźni stosujący sterydy anaboliczne (często stosowane zwłaszcza w młodszych grupach wiekowych w celu przyrostu masy mięśniowej).

- Liczebność próby jest stosunkowo niewielka – 86 mężczyzn, lub 48 dla niektórych analiz. W związku z niewielką liczebnością konieczne jest wykonanie analiz szacujących wielkość próby statystycznie wystarczającą do przyjęcia/odrzućenia hipotez. W pracy brak jest takich analiz.
- Brak jest tabeli przedstawiającej ogólną charakterystykę grupy badanej (zawarty jest opis w tekście)
- Wykluczanie uczestników na podstawie wartości testosteronu czy kortyzolu jest oparte o podejście medyczne, gdzie wartości pomiarów klasyfikuje się jako prawidłowe lub patologiczne, raczej niż podejście biologiczne, gdzie akceptuje się naturalną zmienność wielu cech. Lepiej byłoby odrzucić określonych uczestników w przypadkach, w których wartości pomiarów są odstające statystycznie, raczej niż kierować się normami medycznymi. Poziomy testosteron wśród mężczyzn wykazują znaczne różnice między i wewnątrz populacyjne. Ponieważ w pracy badane są cechy częściowo zależne od poziomów testosteronu (np. wysokość ciała) usuwanie osób posiadających wartości wyższe niż dopuszcza medyczna norma może niepotrzebnie zmniejszać biologicznie interesujący zakres zmienności. Należy jednak zauważyć, że zastosowanie się do powyższych uwag prawdopodobnie nie zmieniło by wyników ponieważ w oparciu o stężenia testosteronu wykluczono zaledwie kilku mężczyzn.
- Analizy statystyczne danych uzyskanych w badaniu są prawidłowe, ale raczej mało zaawansowane. Doktorantka w odrębnych modelach regresji analizuje zależności dotyczące różnych wskaźników funkcjonowania układu immunologicznego. Czy wskaźniki te są ściśle ze sobą skorelowane? Brak jest analiz statystycznych, które pozwoliłyby to ustalić. Czy można by zaproponować model uwzględniający więcej niż tylko pojedynczy wskaźnik immunologiczny? Być może istnieją interakcje pomiędzy różnymi wskaźnikami immunologicznym mające powiązania z cechami atrakcyjności? Dodatkowo, w pracy brak jest informacji o wzajemnej korelacji (lub jej braku) pomiędzy cechami atrakcyjności. Założenie, że oczekiwane zależności będą miały przebieg liniowy i mogą być testowane za pomocą regresji liniowej (a nie na przykład kwadratowej) nie jest dobrze uzasadnione w pracy.

Interesujące byłyby wyniki testowania modelu, który zawierałby wszystkie trzy badane w pracy cechy atrakcyjności. Zastosowane w pracy podejście do analizy danych polegające na wykonaniu regresji prostych na podstawie, których decyduje się, które zmienne wchodzi do modeli regresji wielorakiej jest zbytnim uproszczeniem. Ciekawsze byłyby modele budowane w oparciu o przesłanki merytoryczne, tzn. testujące zależności wynikające z wiedzy i przemyśleń Autorki na temat oczekiwanych zależności i wzajemnych powiązań pomiędzy zmiennymi. Autorka podkreśla na str. 106: "Ponieważ układ odpornościowy funkcjonuje jako skomplikowana sieć wzajemnie kooperujących, uzupełniających się i wieloaspektowo działających mechanizmów, w niniejszej pracy wykorzystano najważniejsze jakościowe i funkcjonalne testy wybranych mechanizmów odpowiedzi swoistej. Taka kompleksowa analiza jest niezbędna, by rzetelnie ocenić efektywność działania mechanizmów odpornościowych i wnioskować na ich podstawie o kondycji

immunologicznej osobnika.” Szkoda, że kompleksowa analiza laboratoryjna nie została poparta kompleksową analizą statystyczną.

Poza tym, skoro wiadomo, że niektóre czynniki (jak np. poziom testosteronu, palenie tytoniu, czy zawartość tkanki tłuszczowej) mają działanie immunomodulujące, powinno uwzględniać się je w analizach, niezależnie od tego co wynika z analiz regresji prostej. Być może ich wpływ jest mocniejszy kiedy działają łącznie?

- Dyskusja, pomimo wspomnianych niedociągnięć edytorskich, jest napisana w sposób dojrzały, wskazujący na bardzo dobrą znajomość literatury, metodologii i wyników poprzednich badań. Autorka krytycznie podchodzi do poprzednich badań i z dużą swobodą wskazuje na występujące w nich problemy metodologiczne. Natomiast Rozdział 5.4 powinien raczej znaleźć się we Wstępie pracy niż w Dyskusji.

- Jeden z krytycyzmów dotyczących podjęcia tematu pracy może wynikać z pytania czy w społeczeństwach krajów rozwiniętych ekonomicznie, gdzie poważne choroby bakteryjne, wirusowe, czy pasożytnicze nie stanowią większego problemu można oczekiwać zależności pomiędzy cechami atrakcyjności kształtowanymi w dzieciństwie i w okresie dojrzewania a funkcjonowaniem układu immunologicznego. Również jest możliwe, że wśród dobrze odżywionych populacji nie powinniśmy oczekiwać istnienia kompromisów (trade-offs) pomiędzy cechami uznanymi za atrakcyjne a funkcjonowaniem układu immunologicznego, bo można założyć, że dobrze odżywione osobniki mogą sobie pozwolić na utrzymanie różnych funkcji organizmu na odpowiednim poziomie. Autorka wspomina o tych zagadnieniach w Dyskusji, ale przygotowanie wyników do publikacji będzie wymagało starannego przemyślenia tych zagadnień.

- Wbrew temu co pisze Autorka (str. 116) samoocena stanu zdrowia jest zadziwiająco rzetelnym wskaźnikiem “prawdziwego” stanu zdrowia i dobrym predyktorem ryzyka zgonu.

Fakt, że moja recenzja zawiera więcej uwag krytycznych niż uwag pokreślających zalety pracy nie powinien być interpretowany jako negatywna ocena pracy. Pracę oceniam zdecydowanie pozytywnie, mając jednocześnie nadzieję, że moje uwagi będą pożyteczne przy przygotowaniu publikacji lub planowaniu kolejnych badań. W związku z tym, że w pracy nie uzyskano statystycznie istotnych wyników należy przygotować się na krytyczne uwagi i pytania recenzentów manuskryptów dotyczące metodologii, posiadania próby o liczebności wystarczającej do testowania hipotez, czy rodzaju wykonanych analiz statystycznych. Moim zdaniem wyniki pracy powinny zostać opublikowane i życzę Doktorantce publikacji artykułów w dobrych czasopismach. Myślę również, że konferencyjne prezentacje tych zagadnień spotkałyby się z zainteresowaniem w dziedzinie ewolucyjnej biologii człowieka i medycyny ewolucyjnej.

W podsumowaniu należy podkreślić, że praca doktorska wskazuje na pełne przygotowanie Doktorantki do dalszej samodzielnej kariery badawczej. Uważam, że

praca Pani Judyty Nowak jest wartościowym opracowaniem, spełniającym warunki stawiane ustawowo rozprawom doktorskim, zgodnie z obowiązującą Ustawą o Stopniach i Tytułach Naukowych. Zwracam się do Szanownej Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Grażyna Jasieńska