

Dr hab. Eugenia Murawska-Ciałowicz, prof. nadzw.  
Katedra Fizjologii i Biochemii AWF we Wrocławiu  
al. I. J. Paderewskiego 35  
51-612 Wrocław  
tel. 71/347 33 59 (60)  
E-mail:[eugenia.murawska-cialowicz@awf.wroc.pl](mailto:eugenia.murawska-cialowicz@awf.wroc.pl)



Wrocław, 17-07- 2019

Recenzja pracy doktorskiej mgr Agaty Adasik

pt: **„Wpływ treningu fizycznego na poziom hormonów płciowych i rozwój raka gruczołu listwy młeczej wywołanego N-metyl-N-nitrozomocznikiem u szczurów”**  
wykonanej pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Marka Woźniewskiego

Rak piersi to obecnie najczęściej występujący, ale też jeden z najlepiej poznanych w kontekście epidemiologicznym i molekularnym, nowotwór kobiet. Ryzyko jego wystąpienia wzrasta wraz z wiekiem, zwłaszcza w okresie pomenopauzalnym. Niestety coraz częściej rozpoznawany jest również u młodych kobiet. Według epidemiologów w ostatnich 30 latach u kobiet w wieku 20-49 lat, zachorowalność na raka piersi wzrosła prawie 2-krotnie. Oznacza to wyłączenie w pełni aktywnych dotychczas kobiet z pełnionych przez nie ról społecznych i zawodowych. Niejednokrotnie jest przyczyną wewnątrzrodzinnnych dramatów, psychicznej i społecznej alienacji.

Z danych epidemiologicznych wynika również, że liczba zgonów z powodu raka piersi utrzymuje się na w miarę jednakowym poziomie, co świadczy o tym, że coraz większy odsetek kobiet żyje z tą chorobą, a ona sama staje się coraz bardziej przewlekłą niż śmiertelną. W Polsce liczba nowych zachorowań wciąż rośnie i według statystyk w ciągu najbliższych 10 lat będzie ich ok. 20 tys./rok. Niestety również wskaźniki szans przeżycie w różnych krajach Europy pokazują, że Polki mają znacznie mniejsze szanse przeżycia pięciu lat po zdiagnozowaniu choroby niż większość europejskich kobiet.

Dowodzi to faktu, że polski system ochrony zdrowia jest nieefektywny. W tym świetle ważna jest samoświadomość kobiet, która nakłada na nie obowiązek stałej edukacji oraz profilaktyki poprzez odpowiedni styl życia.

Bardzo istotna jest również właściwa diagnoza wykorzystująca zdobycze m.in. biologii molekularnej – czuła, swoista i precyzyjna metoda laboratoryjna.

Z tego ostatniego nurtu badań wywodzi się koncepcja i pomysł badawczy pracy Pani mgr Agaty Adasik, w których Autorka próbuje znaleźć odpowiedź na pytanie czy wysiłek fizyczny ujęty w ramy treningu jest czynnikiem ograniczającym/redukującym/spowalniającym rozwój guzów nowotworowych.

Praca ta w swoim założeniu jest bardzo ambitna i z naukowego punktu widzenia bardzo ważna. Potrafimy dzisiaj wymienić wiele czynników indukujących raka piersi, jednak nie dość dokładnie poznane są mechanizmy ich działania. Choć wyniki wielu badań naukowych udowadniają, że wysiłek fizyczny powinien być stosowany jako forma profilaktyki przeciwnowotworowej, to również nie w pełni poznane są mechanizmy tego korzystnego wpływu. Można wskazać najistotniejsze z nich, jak np. redukcja stresu, nadmiaru tłuszczu w organizmie, obniżenie poziomu insuliny redukującej stężenie SHBG (*sex hormone binding globulin*), działanie antyoksydacyjne, efekt apoptotyczny, wpływ na układ hormonalny i immunologiczny (wzrost wydzielania katecholamin stymulujących limfocyty T cytotoksyczne i komórki NK), obniżanie stężenia hormonów płciowych... Jak pokazują badania, jest jeszcze bardzo wiele pytań, jeszcze wiele do udowodnienia. Nie wiemy wystarczająco dokładnie, jaka jest ranga znanych już mechanizmów, który z nich pełni nadrzędną rolę...?

Jak wcześniej wspomniałam kontekst pracy jest bardzo interesujący i ważny. Jak zatem, w moim pojęciu, Autorka wywiązała się z podjętego zadania.

Praca obejmuje łącznie 70 stron wraz z piśmiennictwem i streszczeniami w języku polskimi i angielskim. Sam tekst pracy wraz z siedmioma tabelami zawarty jest na 49 stronach. Struktura dysertacji poprawna, charakterystyczna dla opracowań naukowych. Posiada wszystkie niezbędne rozdziały, choć może można by było dyskutować nad objętością (liczbą stron) pracy, zważywszy na diagnostyczną ważność poruszanej w niej tematyki. Nie budzi jednak nieuzasadnionych zastrzeżeń.

Autorka postawiła wysoko poprzeczkę. Celem Jej badań była próba sprawdzenia czy trening fizyczny prowadzony przez 12 tygodni, zadany grupie szczurów intoksykowanych wcześniej N-metylo-N-nitrozomocznikiem wpływa na liczbę i rozmiar guzów nowotworowych, stężenie hormonów płciowych – estradiolu i progesteronu, ekspresję ich receptorów oraz ekspresję markera proliferacji komórkowej Ki-67 i apoptozę komórek nowotworowych oraz czy istnieją związki pomiędzy stężeniem hormonów a aktywnością apoptotyczną i proliferacyjną komórek guzów.

We wstępie, Autorka przedstawia ogólnie znane problemy epidemiologii nowotworów, w tym raka piersi i za każdym razem, niepokojące i trudne do zaakceptowania liczby. Opisuje również czynniki ryzyka rozwoju raka piersi oraz przedstawia przekonujące dane świadczące o prewencyjnym działaniu aktywności fizycznej, redukującej ryzyko wystąpienia nowotworu piersi i jej korzystny, protekcyjny wpływ na jakość życia kobiet po leczeniu. W tej sekcji wspiera swój wywód najnowszymi opracowaniami literaturowymi.

W dalszej kolejności opisuje udział hormonów płciowych w rozwoju raka piersi oraz jego zwierzęcy model i wpływ treningu fizycznego na rozwój raka listwy mlecznej i aktywność hormonów płciowych u szczurów.

Całość wstępu to logiczny i klarowny wywód, który nie powinien być niczym zaskakującym u pracownika nauki, wskazuje jednak na wyjątkowo dojrzałe podejście Autorki i znajomość nietłatwych



zagadnień. Jedyne co może budzić zastrzeżenie/dyskusję w tej części pracy, to pojęcie „dawka treningu fizycznego”. Rozumiem, że zostało ono użyte w kontekście leczniczego działania wysiłku fizycznego, stąd porównanie go do leku. Trening fizyczny ma jednak dość precyzyjną definicję. To pojęcie odzwierciedlające systematycznie podejmowane działania ruchowe składające się na mikro-, mezo- czy makrocykl. Zdefiniowaną intensywność ćwiczeń, czas pracy, częstotliwość. Dlatego moim zdaniem, pojęcie „dawka treningu fizycznego” choć może atrakcyjne medialnie, w pracy naukowej raczej nie powinno być używane.

Kolejny rozdział to „Cel pracy oraz Hipotezy”. W mojej opinii powinien być nazwany „Założenia i cel badań”, w którym Autorka mogłaby, powołując się na liczną w tym zakresie literaturę, założyć, że u szczurów intoksykowanych N-metylo-nitrozomocznikiem, trening o umiarkowanej intensywności spowoduje najkorzystniejsze zmiany. A tak sformułowany przez Autorkę cel nie do końca odzwierciedla zamysł badawczy. Autorka pisze, że celem Jej badań była „ocena wpływu trening fizyczny na (...) rozwój raka listwy mlecznej” u intoksykowanych szczurów, co można zrozumieć również przewrotnie, że wysiłek fizyczny stymuluje rozwój raka, a zamysł był raczej odmienny. Autorka chciała raczej zbadać czy trening działa hamująco/protekcynnie na rozwój raka gruczołu listwy mlecznej.

„Badane osobniki i metody badawcze” ten rozdział powinien być raczej zatytułowany „Materiał i metody”, a podrozdział zatytułowany „Badane osobniki” Ponadto, niezależnie od tytułu, ten rozdział powinien być rozdziałem IV, a nie tak jak jest w pracy, rozdziałem VI.

Przy charakterystyce szczurów nie podano jaka była ich masa ciała przed wprowadzeniem treningu i w chwili uśmiercania. Co prawda tabela 2. przedstawia dane dotyczące masy ciała szczurów, ale można się tylko domyślać, że są to dane stanu po zakończeniu intoksykacji. Sądząc również po masie ciała i wieku szczurów przed przystąpieniem do eksperymentu, były one bardzo młode, a intoksykację rozpoczęto przed uzyskaniem przez nie dojrzałości płciowej. Prawdopodobnie niedojrzały w stopniu należyтым układ rozrodczy charakteryzował się ograniczonym wydzielaniem hormonów płciowych i w efekcie mogło to mieć istotny wpływ na uzyskane wyniki? Czym było podyktowane wykorzystanie młodych szczurów do badań. Dlaczego nie przeprowadzono badań u zwierząt starszych lub nie wprowadzono dodatkowej grupy zwierząt starszych i np. szczurów po jednym miocie lub większej ich liczbie?

W opisie o intoksykacji nie podano objętości płynu, zatem i rzeczywistej dawki i N-metylo-nitrozomocznika podawanego szczurom.

Rozdział IV 1.2. Autorka pisze „szczury zostały podzielone losowo na cztery grupy” (str. 22). Taki opis sugeruje, że badano cztery grupy, przy czym każda z grup poddana była treningowi o innej intensywności. Po czym Autorka opisuje trzy z nich, a czwartą okazuje się być cała grupa badanych szczurów poddana treningowi. Opis grup przyjęty przez Autorkę jest w pierwszej chwili trochę mylący, zwłaszcza, że tuż pod nim znajduje się tabela 2, w której grupa IV nie jest ujęta. Natomiast pojawia się

w rozdziale wyniki. W dyskusji natomiast jest mowa o czterech grupach, ale jako czwartą Autorka traktuje grupę kontrolną.

Rozdział VI 2.1. Opis treningu nie do końca zgadza się z opisem z rozdziału IV 1.2. Na str. 22, Autorka twierdzi, że po 8 tygodniach treningu szczury podejmowały „dobrowolną aktywność fizyczną” a już na str. 23 „...od 9. do 12. tygodnia zwierzęta zostały poddane treningowi o stałej intensywności”. Powstaje również pytanie, czy dobrowolna aktywność fizyczna jest treningiem?

Kolejne pytanie dotyczy schematu treningu szczurów. Dlaczego Autorka przyjęła protokół treningowy, w którym jest niewiele elementów stałych? Rozumiem, że badany był wpływ intensywności wysiłku na redukcję zmian nowotworowych i przez pierwsze 4 tygodnie szczury adoptowały się do treningu. Dlaczego zatem w każdym tygodniu inny był czas jego rwania, zwłaszcza w okresie, w którym ustalono już jednakową prędkość (intensywność)? Brak stałych parametrów protokołu treningowego mógł mieć niewątpliwie wpływ na wyniki, zatem i wnioskowanie.

Całość metodologii badań bardzo dokładnie opisana, zwłaszcza procedury histologiczne i immunologiczne, nieco ogólniej procedury biochemiczne. Zastosowane testy statystyczne w mojej opinii nie budzą zastrzeżeń.

Rozdział V Wyniki – W tej części pracy czuję największy niedosyt. Szczególnie w kontekście sposobu prezentacji wyników – zbyt mało czytelny, bez formy graficznej, najczytelniejszej w percepcji efektów pracy. W przypadku pracy Pani mgr Adasik analiza danych wymaga wczytywanie się w szereg liczb zawartych w siedmiu tabelach. Ale rozumiem, że jest to praca autorska i Autorka narzuca styl prezentacji. Choć, jak wspomniałam w mojej opinii jest ona mało atrakcyjna.

Uwagi krytyczne do tego rozdziału. Bardzo obszernie przedstawiona metodologia badań szczególnie immunohistochemicznych pozwalała przypuszczać, że w pracy pojawią się również zdjęcia preparatów. Niestety nie przedstawiono ani jednego. Ponadto żaden z badanych parametrów nie miał przypisanego miana. Nie przedstawiono jednostek w jakich opisywano masę guzów, ich objętość (czy raczej rozmiar/wielkość?), oznaczano stężenia hormonów, opisywano ekspresję antygenu Ki-67 czy też określano apoptozę komórkową. W tego typu badaniach uważam to za duże niedopatrzenie, szczególnie dlatego, że praca ma charakter analityczny. Podczas obrony sugeruję prezentację zawierającą wykresy i wprowadzenie miana (jednostek miary) badanych parametrów.

Całość pracy wieńczy ośmiostronicowa, ciekawa dyskusja. Autorka wykazała się umiejętnością dyskusowania swoich wyników z wynikami innych autorów oraz wyczuciem w doborze istniejącej w tym zakresie literatury, w której przedstawiane wyniki często są niejednoznaczne. Ich interpretacja mogłaby być kłopotliwa dla niejednego naukowca z dużym doświadczeniem. W przypadku pracy doktorskiej taka umiejętność zasługuje na uznanie.

Wnioski wyciągnięte z obserwacji są bezpośrednią odpowiedzią na postawione hipotezy badawcze. Choć mam pytanie co do wniosku, zatem i śmiałej hipotezy pierwszej. Czy rzeczywiście



Autorka uważała, że wprowadzenie treningu fizycznego szczurom z zaawansowanym procesem nowotworowym spowoduje zmniejszenie liczby guzów? Rozszerzając twierdzenie - spowoduje wycofywanie się zmian nowotworowych? Udowodnienie tej tezy na pewno byłoby wielkim przełom w nauce.

Piśmiennictwo w liczbie 121, to głównie anglojęzyczne artykuły z ostatnich lat. Oczytanie Autorki i znajomością tematyki zasługuje na szczególną uznanie, zwłaszcza, że temat pracy jest bardzo wymagający poznawczo i metodycznie.

Praca napisana jest poprawnym językiem. Pozostawia jednak niedosyt, szczególnie w rozdziale wyniki. Z reguły praca doktorska jest pierwszym poważniejszym i własnym opracowaniem naukowym, dlatego autor chce pochwalić się w nim swoimi umiejętnościami pisarskimi i efektami swoich badań. Ufam, że podczas obrony dysertacji Autorka wykorzysta formę graficzną do prezentacji uzyskanych wyników.


Powyższe uchybienia nie umniejszają jednak wartości pracy. Autorka wykazała się umiejętnością przedstawiania trudnych treści w prosty sposób, co „jak uczy doświadczenie” nie zawsze jest rzeczą łatwą. Pomimo pewnych uchybień oceniam wysoko pracę Pani mgr Agaty Adasik. W moim przekonaniu praca ma użyteczny charakter, duży ładunek poznawczy, znaczenie kliniczne i społeczne, a badania powinny być kontynuowane.

Na pochwałę zasługuje również umiejętność przygotowanie tak obszernych i pracochłonnych badań, wymagających dużej wiedzy oraz doskonałych zdolności menadżerskich, aby przeprowadzić badania przez wszystkie etapy tak trudnego organizacyjnie eksperymentu. To duża sztuka, w sytuacji często skąpych nakładów finansowych. Znajomość techniki pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi, technik laboratoryjnych, obsługi wyszukanego sprzętu laboratoryjnego z zakresu histologii, immunohistochemii czy biochemii również zasługuje na uznanie.

Dlatego też wnioskuję do Rady Naukowej Wydziału Fizjoterapii Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu o wyróżnienie pracy Pani mgr Agaty Adasik. Jestem przekonana, że bardzo dobre przygotowanie merytoryczne i metodologiczne Autorki zaowocuje w przyszłości wieloma interesującymi badaniami.

Pozostaje mi tylko mieć nadzieję, że subiektywne uwagi i pytania, które zawarłam powyżej zostaną rozważone na dalszych etapach eksperymentu.

W konkluzji stwierdzam, że powyższa praca spełnia wymogi ustawowe stawiane rozprawom doktorskim. Wnoszę zatem o jej przyjęcie i dopuszczenie Pani mgr Agaty Adasik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik  
Zakładu Biochemii  
Katedry Fizjologii i Biochemii  
  
dr hab. Eugenia Murawska-Ciałowicz,  
profesor AWF Wrocław