

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



Wrocław, 10-09-2018

Recenzja pracy doktorskiej mgr Eweliny Maculewicz

pt: **„Badania zmienności genetycznej genów COL1A1, COL3A1, COL5A1 u pacjentów z zerwanym ścięgnem Achillesa jako punkt wyjścia do opracowania wczesnych metod prewencji dla osób aktywnych fizycznie”**

wykonanej pod kierunkiem naukowym Prof. dr hab. Pawła Ciężczyka oraz dr n. biol. Anny Boreckiej, jako promotora pomocniczego

Na wstępie chciałabym bardzo serdecznie podziękować za zaszczyt i zaufanie jakim zostałam obdarzona przez Radę Naukową Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Warszawie.

Badania genetyczne to obecnie bardzo popularny i potrzebny obszar badań diagnostycznych. Badania te mają swoje zastosowanie w różnych dziedzinach nauki i życia. Z najbardziej oczywistych należy wymienić badania na potrzeby kryminalistyki, sądownictwa, farmaceutyki, rolnictwa czy archeologii, choć ze zrozumiałych względów ich największą potrzebę i uznanie dostrzega się w medycynie, w diagnostyce i terapii chorób genetycznych.

Coraz częściej badania polimorfizmów różnych genów wykorzystywane są również w genetyce sportowej, w celu oceny predyspozycji wysiłkowych zawodników ich potencjału sportowego i naboru adeptów do różnych dyscyplin sportowych. Choć wykorzystanie wiedzy genetycznej może mieć również swoją „ciemną stronę” np. w postaci dopingu genetycznego, rozwój genetyki sportowej jest w zasadzie przesądzony. Badania genetyczne również „wychodzą naprzeciw” oczekiwaniom rynku osób aktywnych fizycznie, poszukujących właściwej dla siebie dyscypliny sportowej łączącej ich pozytywne nastawienie i emocje z możliwościami fizjologicznymi. W końcu, wykorzystywane są w ocenie ryzyka wystąpienia urazów u zawodników różnych dyscyplin sportowych.

Z tego ostatniego nurtu badań wywodzi się koncepcja i pomysł badawczy pracy Pani mgr Eweliny Maculewicz, w których Autorka próbuje znaleźć odpowiedź na pytanie czy zmienność genetyczna wybranych przez Nią genów COL1A1, COL3A1 i COL5A1 kodujących różne typy kolagenu, badana u pacjentów z zerwanym ścięgnem Achillesa, może stanowić podstawę metody przesiewowej, wykrywającej predyspozycje do uszkodzeń. Praca Pani mgr Maculewicz to opracowanie spełniające oczekiwania wielu fanów sportu i ludzi aktywnych fizycznie zatroskanych o swoje zdrowie, dostrzegających potrzebę prewencji, a także wszystkich tych, którzy cierpią z powodu kontuzji, jaką jest zerwanie ścięgna Achillesa.

Praca obejmuje 137 stron tekstu, w których zawarto 14 rycin i 14 tabel, imponującą liczbę 335 pozycji piśmiennictwa, 6 adresów stron internetowych, z których zaczerpnięto prezentowane w pracy rysunki oraz 7 aktów prawnych stanowiących o etycznej stronie badań genetycznych. W pracy zamieszczono streszczenie w języku polskim i angielskim. Struktura dysertacji jest charakterystyczna dla opracowań naukowych. Posiada wszystkie niezbędne rozdziały. Choć może można by dyskutować na temat proporcji objętościowej pomiędzy poszczególnymi rozdziałami zwłaszcza wstępem a wynikami, to jednak uważam, że przy takiej złożoności problemu, jaki podjęła Autorka, jest to wybacalne. W mojej opinii nie budzi zastrzeżeń.

Praca jest napisana bardzo starannie, ładnym i klarownym językiem, co świadczy o zaangażowaniu i dbałości Autorki o szczegóły i nie pozostawia wątpliwości co do jakości uzyskanych i prezentowanych wyników Jej poszukiwań.

Autorka postawiła przed sobą trudne zadanie. Celem Jej badań była próba sprawdzenia czy konkretne genotypy i allele polimorfizmu genów COL1A1, COL3A1 i COL5A1 kodujących białka kolagenowe występują częściej u osób aktywnych fizycznie, u których doszło do zerwania ścięgna Achillesa, w porównaniu do grupy reprezentującej zdrowych osobników również aktywnych fizycznie.

We wstępie, w pierwszej jego części, Autorka dość szeroko opisuje problematykę urazów aparatu ruchu w tym urazy ścięgna Achillesa, wskazując te dyscypliny sportowe, w których urazowość jest największa i największe ryzyko zerwania/uszkodzenia tego ścięgna. Przedstawia również czynniki ryzyka i przyczyny tych uszkodzeń. Druga część wstępu poświęcona jest opisowi budowy i charakterystyce różnych rodzajów kolagenu tworzących elementy struktury wszystkich narządów i tkanek, ze szczególnym uwzględnieniem więzadeł i ścięgien. Trzecia część wstępu poświęcona jest problematyce genetycznej dotyczącej polimorfizmu genów, które są myślą przewodnią dysertacji. Za ciekawe w tej części pracy

uznają również włączenie do rozważań ogólnych elementy aktów prawnych normujących „na dzisiaj” stronę etyczną badań genetycznych. Uważam ten rozdział za ważny i potrzebny, choć być może merytorycznie odległy od głównego wątku pracy. Całość wstępu to logiczny i klarowny wywód, który nie powinien być niczym zaskakującym u pracowników nauki, wskazuje jednak na wyjątkowo dojrzałe podejście Autorki i znajomość nietrywialnych zagadnień. Autorka nie ustrzegła się jednak kilku błędów językowych, w tym ortograficznego („w skutek” zamiast „wskutek”), „skurczy” zamiast „skurczów” – str 65. Ponadto użyła bardzo niefortunnego określenia pisząc, że prowadziła badania „na ludziach” - str. 66, 77. Odnośnie technicznych uwag, nieprecyzyjną dla mnie jest również numeracja kolejnych rozdziałów i podrozdziałów. Wszystkie rozdziały wstępu powinny być oznaczone numerem 1, np.1.1, 1.2, 1.3, a podrozdziały numerami 1.1.1, 1.1.2., 1.2.1. itd.

Te i inne uchybienia nie umniejszają jednak wartości pracy. Autorka wykazała się dojrzałością stylu, umiejętnością pisarską i przedstawianiu trudnych treści w prosty sposób, co „jak uczy doświadczenie” nie zawsze jest rzeczą łatwą.

Kolejny rozdział to „Cel pracy, hipotezy i pytania badawcze”. W mojej opinii powinien być nazwany „Założenia i cel badań” i oznaczony numerem 2. Autorka postawiła cztery pytania badawcze poprzedzone hipotezami. W tej części pracy czuję pewien niedosyt. Prosiłabym aby Autorka stawiając hipotezy badawcze doprecyzowała dlaczego wskazane przez nią konkretne allele związane z polimorfizmem określonych genów predysponują do zwiększonego ryzyka zerwania ścięgna Achillesa. Czy są to założenia wynikające z istniejących w literaturze fachowej przesłanek czy wręcz odwrotnie, nie badano dotychczas wskazanych alleli w korelacji do uszkodzeń ścięgien czy więzadeł?

„Materiał i metody”, który z sugerowanym przeze mnie porządkiem powinien być rozdziałem 3. Podrozdział „Materiał do badań” zatytułowałabym raczej „Grupa badana” lub po prostu „Badani”. Autorka opisuje grupę pacjentów, ochotników, zakwalifikowanych do zabiegu chirurgicznego polegającego na zszyciu podskórnym zerwanego ścięgna Achillesa. W charakterystyce grupy widzę jednak kilka niedomówień dlatego proszę podczas obrony o doprecyzowanie. Czy grupę badaną i kontrolną stanowili tylko mężczyźni? Na podstawie parametrów wysokości ciała (a nie wzrostu) i masy ciała wnioskuję, że tak, jednak określenia tj. „ochotnicy”, „osoby aktywne fizycznie” „biegacze amatorzy”, „pacjenci”, nie daje mi pełnego przekonania, że rzeczywiście byli to mężczyźni.

Kolejną niewiadomą jest wielkość obciążenia. Autorka pisze, „...mimo podobnej co do obciążeń i charakteru aktywności fizycznej”. Charakter aktywności fizycznej jest nam znany,

nie do końca jednak znamy obciążenie. Podanie jedynie częstości treningów, jak pisze Autorka „nie rzadziej niż trzy razy w tygodniu” w przypadku grupy badanej, to zbyt mało jak na opracowanie naukowe. W mojej opinii powinno się w opisie treningu zawrzeć co najmniej następujące informacje: czas trwania pojedynczej jednostki treningowej i obciążenie określone przez częstość skurczów serca (HR) albo HRmax lub po prostu wydatek energetyczny czy MET. Ważną informacją byłaby też długość pokonywanego dystansu w ciągu dnia i w ciągu tygodnia. Każdy biegacz amator kontroluje swoje osiągnięcia, dlatego zakładam, że Autorka jest w posiadaniu tych danych i bez problemu przedstawi je podczas obrony pracy. Inną ważną daną wydaje mi się też staż w bieganiu. Być może ta informacja nie jest przydatna w badaniach genetycznych, ale przy charakterystyce obu grup powinna być zawarta.

Mam również pytanie dotyczące wsparcia finansowego. Czy badania były elementem grantu finansowanego przez, np. NCN? Pytanie to zrodziło się z mojej uważnej lektury czasu i miejsc gromadzenia „prób do badań” oraz siedziby Komisji Bioetycznej wydającej decyzje. Miejsca te są odległe od Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii. Jeśli moja uwaga jest słuszna podczas przygotowania pracy do druku w prestiżowym czasopiśmie warto by wspomnieć o wsparciu finansowym.

Metodyka badań izolacji DNA i zastosowania metody real-time PCR jest dobrze opisana, zastosowane metody oceny statystycznej nie budzą zastrzeżeń. Wyniki ujęte w formie 10 tabel są czytelne. Udowodniono, że jedynie polimorfizm genu COL3A1 może być narzędziem diagnostycznym wykorzystywanym w ocenie ryzyka urazów ścięgna Achillesa, natomiast badane polimorfizmy genów COL1A1 i COL5A1, nie. Nie wykazano również oddziaływań dwugenowych badanych genów w badanych modelach genetycznych kodominująco – kodominującym oraz dominująco – dominującym.

Całość pracy wieńczy 12-to stronicowa, ciekawa, bardzo dobrze napisana dyskusja. Autorka wykazała się w niej wiedzą i umiejętnością dyskusowania swoich wyników z wynikami innych autorów oraz doskonałym wyczuciem w doborze istniejącej w tym zakresie literatury, w której niejednokrotnie przedstawione wyniki są niejednoznaczne, co mogłoby być kłopotliwe dla niejednego naukowca z dużym. W przypadku pracy doktorskiej taka umiejętność zasługuje na uznanie. Jedyna uwaga, to odmienność z jaką Autorka interpretuje swoje wyniki. Na stronie 85 i 86 w rozdziale Wyniki są one przedstawione nieco inaczej niż w Dyskusji na stronie 92. Czy tak jest poprawnie, czy może jest to niedopatrzenie?

Wnioski wyciągnięte z obserwacji są prawidłowe i są bezpośrednią odpowiedzią na postawione pytania badawcze. Piśmiennictwo, jak już wcześniej wspomniałam w imponującej liczbie 335, to głównie anglojęzyczne artykuły z ostatnich lat. Dowodzi to dużego odczytania i znajomości tematyki, którą Autorka się zajmuje i jak sądzę pasji poznawczej.

W podsumowaniu stwierdzam, że mimo pewnych niejasności, które zwerbalizowałam powyżej oceniam bardzo wysoko pracę Pani mgr Eweliny Maculewicz. W moim przekonaniu praca ma utylitarny charakter, duży ładunek poznawczy, znaczenie kliniczne i społeczne, a badania powinny być kontynuowane.

Na szczególną pochwałę zasługuje umiejętność przygotowanie tak obszernych badań, wymagających dużej wiedzy z zakresu genetyki oraz doskonałych zdolności menadżerskich aby móc je przeprowadzić przez wszystkie etapy tak trudnego organizacyjnie eksperymentu, wyselekcjonować grupę pacjentów, przeprowadzić część laboratoryjną. To duża sztuka, w sytuacji często skąpych nakładów finansowych. Jestem przekonana, że bardzo dobre przygotowanie merytoryczne i metodologiczne Autorki zaowocuje w przyszłości wieloma interesującymi badaniami. Pozostaje mi mieć nadzieję, że subiektywne uwagi, które zawarłam powyżej nie będą brane mi za złe, a jedynie posłużą do uważnej korekty dysertacji przed skierowaniem jej do druku w prestiżowym czasopiśmie.

W konkluzji stwierdzam, że powyższa praca spełnia w pełni wymogi ustawowe stawiane rozprawom doktorskim. Wnoszę zatem o jej przyjęcie i dopuszczenie Pani mgr Eweliny Maculewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, zważywszy na oryginalność i nowatorstwo, znaczenie poznawcze i aplikacyjne przedstawionej mi do recenzji dysertacji wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Warszawie o jej wyróżnienie.

Kierownik
Zakładu Biochemii
Katedry Fizjologii i Biochemii

dr hab. Eugenia Murawska-Ciałowicz,
profesor AWF Wrocław