



dr hab. n. farm. Bartosz Wielgomas

Gdańsk, 20.11.2018

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Joanny Stragierowicz,

pt.: „Wpływ heksachloronaftalenu (HxCN) na układ rozrodczy, poziomy hormonów tarczycy i wybrane neuroprzebieżniki u samic szczurów Wistar”

Praca doktorska została wykonana w Międzywydziałowej Katedrze Farmakologii Ogólnej, Klinicznej i Toksykologii – Zakładzie Toksykologii pod kierunkiem promotora: dr hab. Anny Kilanowicz-Sapota, prof. nadzw. UMed.

Rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o cykl trzech publikacji oryginalnych, w których doktorantka jest pierwszym autorem. Wszystkie wspomniane prace zostały opublikowane w czasopismach z listy JCR o łącznym współczynniku wpływu równym 6,335 oraz punktacji MNISW = 70.

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest 63 stronicowym wydrukiem zawierającym merytoryczne rozdziały opisujące a) uzasadnienie podjęcia badań, b) założenia pracy i cele naukowe, c) część doświadczalną oraz d) podsumowanie realizacji badań wraz z dyskusją. Wydrukowi towarzyszą kopie publikacji zawierających wyniki badań, kopie zgód lokalnej komisji etycznej do spraw doświadczeń na zwierzętach oraz oświadczenia współautorów publikacji o udziale i roli w powstawaniu tychże publikacji.

Ocena rozprawy

Polichlorowane naftaleny (PCNs) to grupa związków chemicznych, zaliczanych do tzw. trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO) i jednocześnie jedna z najmniej poznanych w kontekście aktywności biologicznej i oddziaływania na środowisko spośród wszystkich TZO. Niedawno, w 2015 roku oficjalnie wzbogaciły listę substancji wymienionych w załącznikach A i C Konwencji Sztokholmskiej. Aby nowe substancje mogły się na tej liście znaleźć muszą istnieć wystarczające dowody naukowe potwierdzające ich toksyczność oraz trwałość w środowisku. Związki z grupy TZO charakteryzują się stosunkowo niską toksycznością ostrą natomiast

najwięcej niepokoju budzą skutki odległe wynikające z długotrwałej ekspozycji na niskie dawki wskutek narażenia środowiskowego. Dotychczas zgromadzona wiedza pozwala na wskazanie niektórych kierunków działania toksycznego polichlorowanych naftalenów, ale nadal wiele mechanizmów pozostaje niewyjaśnionych.

Mimo, że polichlorowane naftaleny wycofywano stopniowo z produkcji już od lat 80. ubiegłego wieku to nadal występują w środowisku. Wykazano, że poza celową produkcją przez człowieka w przeszłości, istnieją nadal inne, współczesne źródła tych związków, które są znacznie trudniejsze do wyeliminowania. PCNs powstają w procesach wysokotemperaturowych i podczas niekontrolowanego spalania odpadów, które stanowią główne źródła emisji do środowiska. Niewiele wiadomo na temat wielkości ekspozycji u ludzi, gdyż nie są to substancje rutynowo podlegające monitoringowi biologicznemu, w odróżnieniu od polichlorowanych bifenyli, insektycydów chloroorganicznych czy polichlorowanych dibenzoparadioksyn oraz polichlorowanych dibenzofuranów. Wynika to po części z ograniczonej wiedzy na temat toksyczności i potencjalnych skutków zdrowotnych u narażonych ludzi. Dowodem na to, że PCNs stanowią swego rodzaju „niszę” tematyczną jest także ograniczona komercyjna dostępność substancji wzorcowych do badań. Brak danych na temat toksyczności oraz toksykokinetyki stał się uzasadnieniem do podjęcia badań przez mgr Joannę Stragierowicz.

W oparciu o istniejące dane toksykologiczne oraz podobieństwo w wielu aspektach to dioksyn, doktorantka słusznie podejrzewała, że PCNs mogą oddziaływać niekorzystnie na gospodarkę hormonalną oraz wykazywać ogólny, niekorzystny wpływ na rozrodczość u kobiet.

Powyższe przypuszczenia stały się podstawą do sformułowania celów pracy, w tym: zbadania dystrybucji heksachloronaftalenu oraz transportu przezłożyskowego u ciężarnych samic szczurów i płodów po podaniu jednorazowej dawki związku. Pozostałe cele obejmowały określenie oddziaływania wielokrotnego podawania heksachloronaftalenu na funkcjonowanie układu rozrodczego u samic, poziomy niektórych hormonów i neuroprzebieżników.

Doktorantka osiągnęła założone cele przeprowadzając trzy doświadczenia na szczurach a każdy z eksperymentów był starannie zaplanowany i wykonany umożliwiając wiarygodną interpretację i ewentualną replikację badań.

Badanie dystrybucji przeprowadzono na ciężarnych samicach z wykorzystaniem heksachloronaftalenu znakowanego radioizotopem. Wyniki tych badań potwierdziły zdolność HxCN do przenikania przez łożysko oraz do pokonywania bariery krew-mózg. Co więcej, wykazano, że HxCN ulega redystrybucji w organizmie w miarę upływu czasu po ekspozycji, gdyż stężenia HxCN wzrastały w mózgu, skórze, tkance mięśniowej i tłuszczowej co jest charakterystyczne dla lipofilnych ksenobiotyków o niewielkiej podatności na biotransformację. Bardzo istotną obserwacją jest znalezienie względnie wysokich stężeń HxCN w tkankach płodu.

Spośród uzyskanych przez doktorantkę wyników chciałbym wskazać na te o szczególnej wadze:

- Określenie dystrybucji heksachloronaftalenu w ciężarnych samic ze wskazaniem organów krytycznych zarówno u samic jak i płodów w oparciu o badania radioizotopowe;
- Wykazanie zdolności HxCN do przenikania przez barierę krew-mózg oraz barierę łożyskową;
- Wykazanie zależnego od dawki i czasu ekspozycji działania na hormony tarczycy;
- Potwierdzenie działania zaburzającego homeostazę hormonów płciowych (działanie estrogenowe i antyestrogenowe w zależności od czasu ekspozycji);
- Pierwsze na skalę światową wyniki badań *in vivo* dokumentujące działanie tyreotoksyczne HxCN.

Powyższe obserwacje mają znamiona nowości naukowej i z pewnością będą punktem odniesienia dla kolejnych badań w tej tematyce. Jedynym elementem, którego zabrakło w publikacji III lub też samej rozprawie to próba wyjaśnienia mechanizmu „adaptacji” obserwowanej w przypadku zmienności kierunku oddziaływania HxCN na hormony płciowe w zależności od czasu trwania ekspozycji. Dlaczego ekspozycja 2 i 4 tygodniowa powodowała odmienne efekty niż ekspozycja 13 tygodniowa, szczególnie w przypadku poziomów estradiolu i progesteronu w macicy? Badania prowadzone przez doktorantkę potwierdziły, że zaburzenie homeostazy hormonów płciowych doprowadza ostatecznie do wydłużenia cyklu rujowego. Podobne efekty obserwuje się przy ekspozycji ludzi i zwierząt laboratoryjnych na inne TZO, jak PCB czy PCDD/PCDF.

Pionierski charakter badań, wzorowa metodologia przeprowadzenia eksperymentów na zwierzętach, konieczność opanowania technik preparacji materiału biologicznego powodują, że całość rozprawy oceniam bardzo wysoko. Wyniki zawarte w trzech opublikowanych pracach, przeszły skrupulatny proces recenzji i nie dziwi fakt, że jedna z nich: „*Hexachloronaphthalene (HxCN) as a potential endocrine disruptor in female rats*” została opublikowana w czasopiśmie *Environmental Pollution* o pięcioletnim współczynniku oddziaływania IF równym 5,291. Warto w tym miejscu podkreślić również, że poza cyklem publikacji wchodzących w skład rozprawy, doktorantka może pochwalić się 5 innymi, w tym 4 oryginalnymi i jedną pracą poglądową. Łączna wartość współczynnika *Impact Factor* (IF) oddziaływania czasopism, w których prace zostały opublikowane to 13,01. Doktorantka zaprezentowała wyniki badań prowadzonych w ramach projektu doktorskiego w postaci 5 doniesień zjazdowych, z których jedno zostało wyróżnione nagrodą za najlepszy plakat podczas warsztatów „Nowe trendy w toksykologii – trwałe zanieczyszczenia organiczne –

zagrożenia dla zdrowia i środowiska –warsztaty” organizowanych przez Polskie Towarzystwo Toksykologiczne oraz Instytut Medycyny Pracy w Łodzi.

Podsumowując, przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Joanny Stragierowicz to oryginalne osiągnięcie naukowe, które spełnia ustawowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę do Rady Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr Joanny Stragierowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

