



Łódź, dn. 19.11.2018

Dr hab. n. med. Joanna Jurewicz, prof. IMP  
Kierownik Pracowni Środowiskowych Zagrożeń Reprodukcyjnych  
Zakład Epidemiologii Środowiskowej  
Instytut Medycyny Pracy w Łodzi  
Ul. Św. Teresy 8  
91-348 Łódź

Recenzja rozprawy doktorskiej  
Mgr Joanny Stragierowicz pt.:

„Wpływ heksachloronaftalenu (HxCN) na układ rozrodczy, poziom hormonów tarczycy  
i wybrane neuroprzekaźniki u samic szczurów Wistar”

Promotor:

dr hab. n. med. prof. nadzw. Anna Kilanowicz-Sapota  
Zakład Toksykologii  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Tematyka i zakres rozprawy doktorskiej:

Rozprawa doktorska Pani Joanny Stragierowicz dotyczy bardzo ważnego zagadnienia jakim jest wpływ heksachloronaftalenu (HxCN) na układ rozrodczy, stężenie hormonów tarczycy i neuroprzekaźniki u samic szczurów Wistar. W 2015 roku polichlorowane naftaleny (PCNs) włączono do trwałych zanieczyszczeń organicznych- związków chemicznych niebezpiecznych dla środowiska naturalnego oraz zdrowia człowieka. Czynniki te mogą wpływać na układ nerwowy czy układ rozrodczy. Są to związki, które zaburzają funkcję układu endokrynnego (ang. endocrine disrupting chemicals) i w związku z tym są traktowane jako priorytetowe, dla których zaleca się wykonanie badań toksykologicznych.

Coraz częściej postulowana jest rola powszechnie występujących czynników środowiskowych, zwłaszcza zaliczanych do grupy związków chemicznych zaburzających funkcję endokrynną (ang. endocrine disrupting chemicals) na płodność mężczyzn i kobiet. Dramatyczny wzrost liczby małżeństw leczących się z powodu niepłodności spowodował, że zdrowie reprodukcyjne zwłaszcza wpływ na nie czynników środowiskowych stał się ważną kwestią zdrowia publicznego. Czynniki środowiskowe mimo, że rzadko prowadzące do

Ośrodek Współpracujący / WHO





nieodwracalnej niepłodności, mogą znacznie wydłużyć czas oczekiwania na ciążę. Czas ten staje się coraz bardziej cenny, w sytuacji gdy decyzje o prokreacji podejmowane są coraz później. Dlatego też tak ważna staje się odpowiedź na pytanie, czy związki powszechnie występujące w środowisku mogą mieć potencjalny wpływ stężenie hormonów, układ rozrodczy, a w konsekwencji na płodność.

Ponieważ polichlorowane naftaleny są najslabiej poznaną grupą trwałych zanieczyszczeń organicznych pod względem profilu toksykologicznego. Informacje na temat ich toksyczności są bardzo ograniczone lub brakuje danych dotyczących toksyczności długoterminowej oraz badań dotyczących ich wpływu na funkcjonowanie układu endokrynnego oraz nerwowego, zatem wybór tematu rozprawy doktorskiej mgr Joanny Stragierowicz stawiającej sobie za zadanie ocenę wpływu heksachloronaftalenu na układ rozrodczy, hormony tarczycy i wybrane neuroprzekaźniki u samic szczurów uważam za w pełni zasadny i wychodzący naprzeciw aktualnym problemom wynikającym z narażenia na czynniki środowiskowe. Badanie przeprowadzone na szczurach daje podstawy do prowadzenia badań epidemiologicznych w populacji generalnej dotyczącego narażenia na polichlorowane naftaleny i wynikające z tego narażenia potencjalne efekty zdrowotne, w tym również ich wpływ na płodność.

W rozprawie zaprezentowano wyniki badań dotyczące transportu przezłożyskowego oraz dystrybucji narządowej heksachloronaftalenu w organizmie ciężarnych samic i ich płodów po jednorazowym podaniu związku. Badano również wpływ wielokrotnego podawania heksachloronaftalenu (od 2 do 13 tygodni) samicom szczura na funkcjonowanie układu rozrodczego, wyrażonego regularnością cyklu rujowego oraz stężenia hormonów płciowych, stężenia wybranych hormonów związanych z funkcjonowaniem tarczycy, stężenia wybranych neuroprzekaźników związanych z GABA.

#### Ocena rozprawy doktorskiej:

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska składa się ze spójnego tematycznie cyklu trzech prac oryginalnych. Wszystkie prace zostały opublikowane w recenzowanych, anglojęzycznych czasopismach naukowych: International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health, Medycyna Pracy i Environmental Pollution. We wszystkich trzech pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, co oznacza, że jej wkład w wykonanie

Ośrodek Współpracujący z WHO





poszczególnych elementów pracy jest dominujący. Udział Doktorantki w przygotowaniu wszystkich publikacji został potwierdzony stosownymi oświadczeniami współautorów, zamieszczonymi na końcu pracy.

Autorka postawiła sobie za cel pracy doktorskiej ocenę wpływu heksachloronaftalenu na funkcjonowanie układu rozrodczego, stężenia hormonów tarczycy i wybranych neuroprzekaźników u samic szczurów Wistar. Przeprowadzono ją w oparciu o badania: transportu przezłożyskowego oraz dystrybucji narządowej HxCN w organizmie ciężarnych samic i ich płodów po jednorazowym podaniu związku, oraz wpływu wielokrotnego podawania (od 2 do 13 tygodni) drogą per os HxCN samicom szczura na funkcjonowanie układu rozrodczego, stężenia wybranych hormonów związanych z funkcjonowaniem tarczycy, poziomy wybranych neuroprzekaźników związanych z GABA.

Cykl obejmuje trzy publikacje z IF, a łączna wartość cyklu to IF=6,335, 70pkt. MNiSW.

Składowe cyklu:

1. Stragierowicz J, Sitarek K, Grobelski B, Kilanowicz A. The effect of prenatal exposure on the disposition of hexachloronaphthalene in female Wistar rats and the fetal compartment. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 2018; 31 (5): 1-5. <https://dx.doi.org/10.13075/ijomeh.1896.01261>.

Artykuł dotyczy pierwszego z celów pracy doktorskiej- transportu przezłożyskowego oraz dystrybucji narządowej heksachloronaftalenu w organizmie ciężarnych samic i ich płodów po jednorazowym podaniu związku. Na podkreślenie zasługuje fakt, że przedstawiona ocena transportu przezłożyskowego heksachloronaftalenu oraz rozmieszczenia narządowego u ciężarnych samic jest pierwszym tego rodzaju badaniem wykonanym dla polichlorowanych naftalenów.

Autorzy wykazali, że heksachloronaftalen z łatwością przenika przez barierę łożyskową do płodów osiągając w ich mózgu i nerkach stężenia wyższe niż we krwi matek. Narażenie ciężarnych samic szczura na heksachloronaftalen prowadzi do wysokiej retencji ustrojowej szczególnie w wątrobie i tkance tłuszczowej matek oraz wykazuje istotne powinowactwo do

Ośrodek Współpracujący z WHO





narządów związanych z rozrodem (macica i jajniki) oraz do układu nerwowego (mózg i nerw kulszowy), a także nadnerczy, co wskazuje te narządy jako docelowe.

2. Stragierowicz J, Daragó A, Brzeźnicki S, Kilanowicz A. Optimization of ultra-performance liquid chromatography (UPLC) with fluorescence detector (FLD) method for the determination of selected neurotransmitters in rat brain. *Medycyna Pracy*. 2017; 68 (5): 583-591. <https://dx.doi.org/10.13075/mp.5893.00622>.

Artykuł drugi dotyczy wpływu wielokrotnego podawania (od 2 do 13 tygodni) drogą per os HxCN samicom szczura na poziomy wybranych neuroprzekaźników związanych z GABA. W badaniu dokonano analizy dwóch podstawowych neuroprzekaźników: hamującego (GABA) i pobudzającego (glutaminian) w tych samych strukturach mózgowia u samic szczurów narażanych wielokrotnie na heksachloronaftalen. W tym celu opracowano i zwalidowano metodę oznaczania tych neuroprzekaźników w homogenatach otrzymanych z wybranych elementów mózgowia szczura z wykorzystaniem techniki ultrasprawnej chromatografii cieczowej (UPLC) w sprzężeniu z detektorem fluorescencyjnym (FLD). Wyniki przedstawione w publikacji są niezwykle cenne z uwagi na to, że ligandy AhR mogą zaburzać neuroendokrynną regulację funkcji rozrodczych. Takie powiązania wykazano np. dla neuronów GABA-ergicznym w obszarze mózgu zwanym jądrem przednio-brzusznym okołokomorowym podwzgórza AVPV (anteroventral periventricular nucleus), które odpowiedzialne są, m.in. właśnie za kontrolowanie funkcji rozrodczych (szczególnie owulacji) poprzez ekspresję genu AhR.

3. Stragierowicz J, Bruchajzer E, Daragó A, Nasiadek M, Kilanowicz A. Hexachloronaphthalene (HxCN) as a potential endocrine disruptor in female rats. *Environmental Pollution*. 2018; 243: 1026-1035. <https://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.045>.

Trzeci artykuł z cyklu publikacyjnego dotyczy wpływu wielokrotnego podawania (od 2 do 13 tygodni) heksachloronaftalenu samicom szczura na funkcjonowanie układu rozrodczego, wyrażonego regularnością cyklu rujowego oraz stężeniami hormonów płciowych i stężenia

Ośrodek Współpracujący z WHO





wybranych hormonów związanych z funkcjonowaniem tarczycy. Prezentowana praca dotyczy bardzo istotnego tematu jakim jest wpływ narażenia na heksachloronaftalen, który jest potencjalnie uważany jest za związek zaburzający funkcję endokrynną na funkcjonowanie układu rozrodczego. Temat jest niezwykle ważny z uwagi na to, że zanieczyszczenie środowiska przez EDCs upatruje się jako jedną z głównych przyczyn prowadzących do zaburzeń, m.in. układu rozrodczego u kobiet, przedwczesnego wygasania czynności jajników, obniżonej rezerwy jajnikowej czy nawet endometriozy. W badaniu po raz pierwszy dostarczono dowodów, że wielokrotne narażenie samic szczura na heksachloronaftalen zakłóca prawidłową regulację wydzielania hormonów płciowych, prowadzi do zaburzonego wydzielania TSH oraz hormonów tarczycy, pozwala wstępnie zaliczyć badany związek do grupy EDCs.

Zestaw przedstawionych prac jest interesujący ze względu na ich uzupełniający się charakter w kontekście szerokiego przedstawienia tematu pracy doktorskiej- wpływu heksachloronaftalenu na układ rozrodczy, stężenie hormonów tarczycy i wybrane neuroprzekaźniki u samic szczurów Wistar.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa na stopień doktora nauk medycznych składa z Wykazu skrótów, Uzasadnienia podjętej tematyki, Założeń pracy i celów naukowych, Części doświadczalnej, Realizacji celów naukowych wraz z dyskusją, Spisu tabel, Spisu rycin, Piśmiennictwa i Załączników. Praca zawiera ponadto streszczenia w języku polskim i angielskim oraz oświadczenia współautorów.

We Uzasadnienia podjętej tematyki pracy doktorskiej Doktorantka szczegółowo przedstawiła teoretyczne podstawy zagadnień, którymi zajęła się w swojej pracy badawczej. Wstęp stanowi szczegółowe i rzetelne omówienie poruszanych zagadnień, w oparciu o szeroką i aktualną literaturę i pozwala czytelnikowi na zapoznanie się z problemami, na których Doktorantka skupia się w swojej pracy badawczej. Wstęp w sposób ciekawy wprowadza w zagadnienia pracy. Przedstawiona wnikliwa analiza aktualnej literatury i danych epidemiologicznych nie pozostawia wątpliwości, że decyzja Doktorantki o kierunku prowadzonych badań jest w pełni uzasadniona zakresem obecnej wiedzy, zarówno z naukowego, jak i medycznego punktu widzenia.





Krótki rozdział „Założenia pracy i cele naukowe” opisuje co planowano zbadać. W rozdziale „Cześć doświadczalna” Doktorantka bardzo dobrze opisuje jakich metod użyła aby odpowiedzieć na zadane w pracy pytania badawcze i zrealizować zakładane cele pracy. Rozdział ten zawiera opis badanego związku, zwierząt doświadczalnych, pobierania i przygotowania materiału biologicznego do badań: oznaczenia stężenia GABA i glutaminianu w wybranych elementach mózgowia szczura, badanie regularności cyklu rujowego, oznaczania stężenia hormonów płciowych i hormonów związanych z funkcją tarczycy, oznaczanie stężenia całkowitego cytochromu P450, stężenia cholesterolu, ocenę histopatologiczną. Ponadto Doktorantka opisała stosowane metody statystyczne, zgodę komisji bioetycznej na przeprowadzenie badania i informacje o źródłach finansowania badania.

W rozdziale „Realizacja celów naukowych wraz z dyskusją” Doktorantka omówiła szczegółowo wyniki kolejnych etapów pracy badawczej. Ten rozdział dysertacji rozpoczęła od przedstawienia wyników zaprezentowanych w cyklu publikacyjnym. Wyniki zostały dobrze udokumentowane i poprawnie zaprezentowane. Wysoko oceniam kompleksowe podejście do tematu wpływu heksachloronaftalenu na układ rozrodczy. Jest to aspekt unikalny i bardzo cenny z punktu widzenia prowadzenia w przyszłości badań epidemiologicznych w populacji kobiet środowiskowo narażonych na heksachloronaftalen. Następnie Autorka przeprowadziła krytyczną analizę otrzymanych wyników w porównaniu z danymi opublikowanymi przez innych autorów. Wszystkie różnice zostały przedstawione w sposób logiczny i syntetyczny, a ich przyczyny poddano wnikliwej analizie. Rozdział ten jest napisany w sposób jasny i przejrzysty i dowodzi dobrego przygotowania do pracy naukowej.

W mojej opinii wnioski z prezentowanego cyklu publikacyjnego powinny stanowić oddzielny punkt pracy doktorskiej, a nie być połączone z dyskusją. W Dyskusji zabrakło prezentacji własnych przemyśleń Doktorantki na badany temat, jak również ewentualnych zaleceń odnośnie wykorzystania uzyskanych przez Autorkę wyników. Zabrakło również podkreślenia mocnych stron i ograniczeń prezentowanego badania.

Praca charakteryzuje się bardzo dobrym poziomem edycyjnym. Z obowiązku recenzenta chciałabym tylko zwrócić uwagę, iż zamiast poziom hormonów tarczycy lepiej byłoby stosować określenie stężenie.





Autorka powołuje się na 113 pozycji literaturowych. Jest to aktualna literatura (w większości opublikowana w ostatnich 10 latach) i dotyczy poruszanych zagadnień. Lista publikacji dowodzi znajomości przez Doktorantkę literatury przedmiotu oraz umiejętności krytycznej oceny źródeł.

Podsumowanie:

Recenzowana przeze mnie praca jest bardzo wartościowa, ma znaczenie poznawcze i dostarcza elementów wiedzy na temat wpływu heksachloronaftalenu na układ rozrodczy, stężenie hormonów tarczycy i wybrane neuroprzekaźniki u samic szczurów Wistar. Ogólna redakcja pracy, sposób wykorzystania źródeł i opis przeprowadzonych badań oraz otrzymanych rezultatów nie budzą zastrzeżeń.

Rozprawę mgr Joanny Stragierowicz oceniam wysoko. Doktorantka sprawnie posługuje się terminologią naukową oraz wykorzystuje dane z piśmiennictwa. Praca dowodzi wysokich kompetencji Doktorantki oraz dobrego przygotowania do samodzielnej pracy naukowej. Przeprowadzone w ramach doktoratu badania dotyczące powszechnie występującego związku środowiskowego (heksachloronaftalenu) są pierwszym krokiem prowadzenia badań epidemiologicznych w tym kierunku.

Reasumując stwierdzam, że wszystkie sformułowane przeze mnie uwagi krytyczne nie mają charakteru zasadniczego a przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska stanowi istotny wkład do problematyki dotyczącej wpływu heksachloronaftalenu na układ rozrodczy, stężenie hormonów tarczycy i wybrane neuroprzekaźniki. Praca także zawiera dużo wiedzy ogólnej i świadczy o bardzo dobrej znajomości problemu przez Doktorantkę.

**Podsumowując, w mojej ocenie rozprawa doktorska mgr Joanny Stragierowicz spełnia wymogi, stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym (ustawa z dnia 14 marca 2003).**

**W związku z tym zwracam się do Rady Naukowej Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr Joanny Stragierowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na bardzo wysoki poziom naukowy cyklu poszerzający obecny stan wiedzy na temat wpływu heksachloronaftalenu na układ rozrodczy, stężenie hormonów tarczycy**

Ośrodek Współpracujący z WHO





i wybrane neuroprzekazniki, biorąc pod uwagę rangę rozwiązywanego problemu, zakres i jakość badań oraz oryginalność metod i narzędzi badawczych stawiam wniosek o wyróżnienie recenzowanej przeze mnie rozprawy doktorskiej.

KIEROWNIK  
Pracowni środowiskowych  
Zagrożeń Reprodukcyjnych  
*Joanna Jurewicz*  
dr hab. n. med. Joanna Jurewicz

