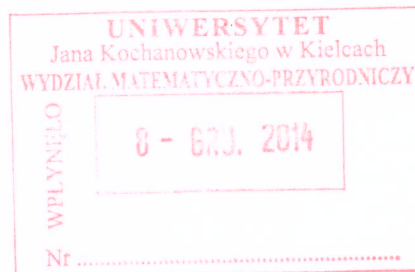


Dr hab. Małgorzata Kruczek

Instytut Nauk o Środowisku UJ

Ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków



Kraków, 1 grudnia 2014

Recenzja rozprawy doktorskiej **mgr Eweliny Honkisz** pt „Tetrabromobisfenol A (TBBPA), jako substancja endokrynnie czynna zaburzająca funkcje łożyska ludzkiego”.

Intensywny rozwój syntetycznych materiałów polimerowych, które bardzo szybko znalazły wykorzystanie w prawie wszystkich dziedzinach życia ludzkiego, leży u podstaw rozwoju produkcji antypirenów, czyli środków opóźniających spalanie materiałów organicznych. Szczególną pozycję wśród nich ma, syntetyzowany na bazie bromu, tetrabromobisfenol A. Jego podstawowe źródło to emisja z materiałów budowlanych, wykończeniowych, farb, urządzeń elektrycznych, mebli, jak również środków chemicznych wykorzystywanych w przeciętnym gospodarstwie domowym (EFSA Journal 2011;9(12):2477). TBBPA jest związkiem lipofilnym i jako taki może pokonywać błony biologiczne a także posiada zdolność pokonywania bariery łożyskowej i łatwo ulega bioakumulacji. Spełnia on również kryteria związków tzw. endocrine disruptors, tzn. związków, które mogą naśladować działanie naturalnych hormonów poprzez łączenie się z ich receptorami modyfikując ich działanie, co prowadzi do zaburzenia homeostazy organizmu (Staszowska A., <http://wis.pol.lublin.pl/kongres3/tom2/22.pdf>). Dlatego też podjęte przez panią mgr Honkisz badania dotyczące wpływu TBBPA na funkcję łożyska ludzkiego,

wpisujące się w nurt badań czynników obniżających zdolności prokreacyjne ludzi, są jak najbardziej aktualne.

Rozprawa doktorska zredagowana została zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami. Całość rozprawy liczy 93 strony, w tym 8 Rysunków, 8 Wykresów, 3 Tabele i 182 anglojęzyczne pozycje bibliografii. Literatura z ostatnich lat (od roku 2000) stanowi ponad 40% wszystkich cytowanych pozycji, co świadczy wymownie o stopniu zainteresowania badaczy tą problematyką.

Manuskrypt pracy rozpoczyna zestawienie wykazu stosowanych w tekście skrótów co ułatwia czytanie maszynopisu a streszczenie i abstract bardzo dobrze odzwierciedlają treść pracy.

Wstęp liczący 16 stron stanowi szczegółowe, moim zdaniem zbyt szczegółowe, wprowadzenie w tematykę badań. Autorka przedstawia w nim budowę i funkcjonowanie łożyska, charakteryzuje dokładnie jądrowe receptory hormonów steroidowych i bardzo drobiazgowo omawia związki endokrynnie czynne, w tym bromoorganiczne antypireny i oczywiście tetrabromobisfenol A. Spora część tych informacji to podstawowe informacje doskonale znane badaczom zajmującym się tą dziedziną wiedzy. Zmniejszenie o te informacje objętości Wstępu uczyniłoby ten rozdział bardziej przystępnym dla czytelnika.

Cele badań – wyodrębniony przez Autorkę jako oddzielny rozdział nie ma, coraz częściej stosowanego, charakteru stawianych sobie do sprawdzenia hipotez, a przedstawia konkretne zadania do zrealizowania mające dokładnie określić postawiony w tytule pracy cel.

Rozdział **Material i metody** obejmuje 15 stron tekstu. W swoich badaniach p. Honkisz wykorzystwała metody stosowane w badaniach immunologicznych, biochemicznych i biologii molekularnej, a metody te zostały opisane jasno i wyczerpująco, dodatkowo niektóre z nich zilustrowane zostały schematami i rysunkami. Na uwagę zasługuje staranność zaplanowanych doświadczeń, każdy następny eksperyment jest logiczną konsekwencją poprzedniego.

Mam kilka uwag do tej części rozprawy:

1. Na str. 33 Autorka opisuje materiał biologiczny, na którym prowadziła badania a którym była linia ludzkich komórek nowotworu trofoblastu JEG-3 wyprowadzona z łożyska pochodzącego z pierwszego trymestru ciąży. A na następnej stronie stara się udowodnić jak jest to adekwatny do celów pracy materiał doświadczalny. Z tym stwierdzeniem polemizowałabym, według mnie wyniki badań uzyskane na izolowanych z organizmu komórkach mogą i powinny być wstępem do dalszych badań. Komórki w organizmie nie są „wyspą” odizolowaną od pozostałych komórek i tkanek organizmu a podlegają modyfikującym wpływom innych organów i ich wydzielin. Czytając pracę z niecierpliwością czekałam na Dyskusję , mając nadzieję, że podniesiony przeze mnie problem zostanie w niej omówiony, niestety zawiodłam się.
2. Podrozdziały 3.4.1, 3.4.2 to opisy metod oznaczania aktywności dehydrogenazy mleczanowej i kaspazy-3. Czy te metody to autorskie metody pani Honkisz?, jeżeli nie to winy zostać poparte stosowną bibliografią. To samo dotyczy metod opisanych w podrozdziale 3.4.4 . Jest to o tyle zaskakujące, że Autorka bardzo solidnie podaje źródła literaturowe wszystkich sformułowań nie będących Jej wytworem.
3. Analiza statystyczna – Autorka pisze, iż „uzyskane wyniki przedstawiono jako procent kontroli i zaprezentowano jako średnią arytmetyczną i błąd standardowy”. Czyżby

średnie liczone z procentowych danych? Jeżeli tak, to o ile jest mi wiadomo, tak nie można, dane procentowe należy poddać transformacji np. kątowej i dopiero w ten sposób uzyskane dane można poddawać analizie statystycznej. Rozkład wartości procentowych w zakresie 1-100 z definicji nie jest normalny.

Wyniki przedstawione zostały na 18 stronach tekstu i bardzo dobrze udokumentowane graficznie na 8 wykresach i 4 rysunkach. Zarówno wykresy jak i rysunki umieszczone zostały nie w postaci osobnego rozdziału na końcu maszynopisu, co jest podobno zgodne ze sztuką pisania tego typu prac, a w odpowiednim miejscu maszynopisu. Według mnie zdecydowanie ułatwia to śledzenie opisu uzyskanych wyników.

Otrzymane wyniki wyraźnie wskazują, iż TBBPA jest substancją zaburzającą sekrecję hormonów istotnych dla utrzymania ciąży i rozwoju płodu; efektem jego działania na komórki JEG-3 był wzrost wydzielania przez nie estradiolu i progesteronu przy jednoczesnym braku wpływu na zmianę żywotności i proliferację komórek. Wzrost sekrecji estradiolu pod wpływem TBBPA związany był ze stymulującym działaniem tego związku na aktywności aromatazy, za który z kolei odpowiedzialny był wzrost stężenia cAMP pod wpływem TBBPA. W toku przeprowadzonych doświadczeń Autorka wykazała także proapoptotyczne działanie tetrabromobisfenolu A.

Wysoko oceniam **Dyskusję**. Jest to bardzo dobrze napisany rozdział. Wszechstronna analiza uzyskanych wyników, oparta na licznych (182 pozycje) pozycjach literatury światowej, wskazuje na dobre rozeznanie w problematyce i dużą dojrzałość naukową Doktorantki. Na podstawie uzyskanych wyników Autorka próbuje tłumaczyć jaką rolę

TBBPA odgrywać może w procesie regulacji przebiegu ciąży i jakie mechanizmy sterować mogą tym działaniem. .

Na uwagę zasługuję bardzo ładny i poprawny język a także duża staranność z jaką praca została napisana. W czasie czytania tekstu rozprawy zanotowałam drobne, należałoby raczej powiedzieć bardzo drobne błędy literowe, i tak:

1. str. 20, 3 linia od dołu – jest ciąży, winno być ciąży
2. str. 46, 4 linia od dołu – jest została, winno być zostało powtórzone
3. str. 58, wykres opisany jako wykres 1, winno być wykres 6
4. str. 20, 3 linia od dołu – co znaczy „, znamienne wyższa”, według mnie winno być statystycznie istotnie wyższa.

Powyzsze uwagi absolutnie nie umniejszają wartości pracy, chciałabym jeszcze raz podkreślić, iż praca napisana została wyjątkowo starannie

Podsumowanie

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi istotny wkład w poznanie roli jaką mogą odgrywać związki halogenoorganiczne w prawidłowym funkcjonowaniu łożyska ludzkiego a spekulując dalej w regulacji częstotliwości poronień i przedwczesnych porodów. Moje drobne uwagi krytyczne absolutnie nie wpływają na pozytywną ocenę pracy. Autorka wykazała się umiejętnością posługiwania się różnymi metodami badawczymi, ma też doskonałe rozeznanie w literaturze światowej. Uważam, że rozprawa doktorska pani mgr Eweliny Honkisz w pełni odpowiada wymogom stawianym tego typu rozprawom, wnoszę więc do Wysokiej Rady Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach o dopuszczenie Pani mgr Eweliny Honkisz dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej.



Małgorzata Kruczek