



UNIWERSYTET
MEDYCZNY
W ŁODZI

Zakład Biologii Molekularnej Nowotworów

92-215 Łódź

ul. Mazowiecka 6/8

tel: 042 2725702

fax: 042 2725694

e-mail: malgorzata.czyz@umed.lodz.pl

www.umed.lodz.pl/zbmn

Ocena pracy doktorskiej

pt. „**Wpływ bisfenolu A i jego wybranych analogów na erytrocyty człowieka**”

wykonanej przez mgr Anetę Wolską w Katedrze Biofizyki Skazań Środowiska

Instytutu Biofizyki Uniwersytetu Łódzkiego

pod kierunkiem dr hab. Jaromira Michałowicza

Organizm człowieka narażony jest na działanie środowiska, które w sposób postępujący jest przez człowieka modyfikowane. W przedmiotach codziennego użytku pojawiają się coraz nowe związki syntetyczne. Bisfenole, grupa związków syntezowanych na świecie w największych ilościach, mają bardzo szerokie zastosowanie m.in. w pojemnikach do przechowywania napojów i żywności, w zabawkach, papierze termicznym, sprzęcie i artykułach technicznych i medycznych. Organizm jest ekspozowany na bisfenole za pośrednictwem wody i napojów, żywności oraz powietrza i kurzu, a zatem bisfenole przedostają się do organizmu drogą pokarmową i oddechową oraz przez powłoki skórne. Coraz więcej doniesień naukowych wskazuje na szkodliwe działanie bisfenoli

na organizm człowieka. W związku z tym, z jednej strony wprowadzane są regulacje prawne ograniczające lub zakazujące stosowania określonych pochodnych bisfenoli w produktach codziennego użytku, z drugiej strony poszukiwane są kolejne analogii, mniej szkodliwe dla organizmu człowieka.

W swojej pracy doktorskiej p. mgr Aneta Wolska badała wpływ bisfenolu A oraz wybranych jego analogów na erytrocyty człowieka.

Praca doktorska p. mgr Anety Wolskiej została wykonana w Katedrze Biofizyki Skazań Środowiska Instytutu Biofizyki pod kierunkiem p. dr hab. Jaromira Michałowicza, od lat zajmującego się oddziaływaniem ksenobiotyków, w szczególności bisfenoli na komórki krwi człowieka. Badania wykorzystane w pracy doktorskiej były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu, którego kierownikiem był Promotor pracy doktorskiej, oraz przez dotację celową dla młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich.

Ocena metodyki badań oraz wartości merytorycznej pracy

Część doświadczalna pracy doktorskiej, opisana w czterech publikacjach oryginalnych, jest bardzo rozbudowana. W badaniach Doktorantka zastosowała szereg nowoczesnych metod, w tym techniki spektrofotometryczne, cytometrię przepływową, mikroskopię oraz spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR). Materiałem do badań były erytrocyty ludzkie izolowane z krwi zdrowych dawców pozyskanej z Banku Krwi w Łodzi. Doktorantka badała oddziaływanie z erytrocytami ludzkimi kilku pochodnych bisfenolu: bisfenolu A (BPA; 2,2-bis-(4-hydroksy-fenyl)-propan), bisfenolu S (BPS; 4,4'-dihydroksy-difenylosulfon), bisfenolu F (BPF; 1,1-bis-(4-hydroksy-fenylometan) i bisfenolu AF (BPAF; 2,2-bis-(4-hydroksyfenyl)-heksafluoro-propan). W swojej pracy doktorskiej wykazała, że bisfenole, z wyjątkiem BPS, powodowały znaczące zmiany

morfologiczne, indukując zmiany wielkości i kształtu erytrocytów. W przypadku BPA i BPAF obserwowano echinocytozę, a w przypadku BPF stomacytozę. Wraz ze wzrostem stężenia bisfenoli i czasu ekspozycji wzrastał poziom hemolizy erytrocytów. Różne bisfenole miały różną zdolność do indukcji eryptozy, przy czym najbardziej efektywny w tym zakresie był BPAF. W badaniach obserwowano zwiększenie poziomu jonów wapnia w cytozolu, eksternalizację fosfatydyloseryny, wzrost aktywności kaspazy 3 oraz kalpajny. Bisfenole, poza najmniej aktywnym BPS, indukowały również powstawanie reaktywnych form tlenu, w tym rodnika hydroksylowego, obniżały poziom zredukowanego glutationu, utleniały hemoglobinę oraz generowały uszkodzenia oksydacyjne białek i lipidów. Związki te, posiadając znaczny potencjał oksydacyjny, zmieniały funkcjonowanie systemu antyoksydacyjnego, głównie poprzez obniżanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych. BPA, BPF i BPAF powodowały wzrost płynności hydrofobowych rejonów dwuwarstwy lipidowej błony oraz indukowały zmiany konformacyjne w białkach błonowych. W czasie inkubacji z bisfenolami obserwowano również zmiany w oporności osmotycznej erytrocytów, poziomie wewnątrzkomórkowego ATP oraz aktywności ATP-azy Na^+/K^+ i acetylocholinoesterazy (AChE).

Wyniki uzyskane dla różnych bisfenoli sugerują, że bisfenol S (BPS) jest jedynym analogiem, który może zastąpić najczęściej stosowany w produkcji przemysłowej bisfenol A (BPA), natomiast bisfenol AF (BPAF) nie powinien być stosowany w produkcji tworzyw sztucznych mających kontakt z żywnością i wodą pitną. Mimo, że bardzo interesujące, wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej dotyczą tylko jednego typu komórek i dość wysokich stężeń związków, które mogą być osiągnięte w warunkach narażenia zawodowego. Nasuwa się zatem pytanie, czy na podstawie wyników uzyskanych dla erytrocytów można formułować jakiegokolwiek zalecenia dotyczące wprowadzenia zamienników bisfenolu A do produkcji przemysłowej. Poszerzenie badań dotyczących wpływu bisfenoli na inne układy

biologiczne wydaje się konieczne. Niemniej jednak, moja ocena dokonań naukowych p. mgr Anety Wolskiej jest wysoka, a wyniki badań nie budzą zastrzeżeń merytorycznych.

Ocena formalna pracy doktorskiej

Praca doktorska p. mgr Anety Wolskiej została przygotowana jako spójny tematycznie cykl czterech artykułów oryginalnych opublikowanych w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports: Comparative Biochemistry & Physiology, Journal of Hazardous Materials, Toxicology in vitro* oraz *Food & Chemical Toxicology*. Czasopisma, w których opublikowano prace charakteryzuje dobry/bardzo dobry 5-letni współczynnik oddziaływania (IF), od 2,78 do 6,39. Sumaryczna wartość IF publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi około 15, a punkty MNiSW wynoszą 145. Są to wartości powyżej przeciętnych wartości dla rozpraw doktorskich przygotowywanych w ramach nauk biologicznych. Na podkreślenie zasługuje również fakt, że Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich publikacjach, co wyraźnie wskazuje na istotne Jej zaangażowanie w przeprowadzenie doświadczeń. Z dołączonych do pracy doktorskiej oświadczeń Doktorantki i pozostałych współautorów publikacji jednoznacznie wynika, że udział p. mgr Anety Wolskiej w uzyskaniu i interpretacji opublikowanych wyników, dotyczących wpływu bisfenoli na erytrocyty człowieka, był znaczący i wynosił od 50% do 60%.

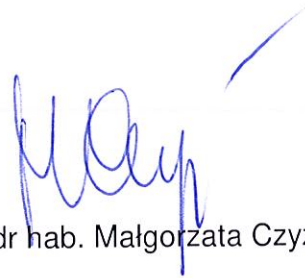
Dołączone do cyklu publikacji omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników oraz streszczenia w języku polskim i angielskim napisane są starannie, językiem komunikatywnym. Stanowią one bardzo dobre wprowadzenie, świadczące o dobrej znajomości tematu. Z wprowadzenia również wynika, że wybór kierunku badań był w pełni uzasadniony.

Wnioski końcowe recenzji

W podsumowaniu stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska p. mgr Anety Wolskiej pt. „Wpływ bisfenolu A i jego wybranych analogów na erytrocyty człowieka”, przygotowana pod kierunkiem p. dr hab. Jaromira Michałowicza w ramach Studiów Doktoranckich Genetyki Molekularnej, Cytogenetyki i Biofizyki Medycznej, dotyczy interesującego zagadnienia naukowego. Uzyskane wyniki badań mają potencjalnie znaczenie praktyczne. Cykl czterech publikacji oryginalnych, który powstał jako rezultat prowadzonych badań, szeroko przedstawia zagadnienie wpływu bisfenoli na erytrocyty człowieka. Badania zostały zrealizowane z wykorzystaniem nowoczesnych technik badawczych, odpowiednich dla osiągnięcia założonego celu pracy. Uzyskane wyniki, przedstawione w czterech artykułach opublikowanych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, zostały zinterpretowane w sposób interesujący w oparciu o obserwacje własne i doniesienia literaturowe. Wprowadzenie, stanowiące integralną część pracy doktorskiej, bardzo dobrze przedstawia aktualny stan wiedzy, wyniki własne i wnioski.

Rozprawę doktorską p. mgr Anety Wolskiej oceniam w pełni pozytywnie. Uważam, że praca Doktorantki spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, zgodnie z Art. 13 Ustawy o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi zmianami (Dz. U. nr 65, poz. 595 z póź. zm.; D.U. z dnia 22 grudnia 2014 roku, poz. 1852, tekst jednolity). Mam zatem zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej p. mgr Anety Wolskiej i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na walory

naukowe pracy, której wyniki zostały bardzo dobrze opublikowane, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.



/Prof. dr hab. Małgorzata Czyż/

Łódź, 18 maja 2018 r