



UNIwersYTET MEDYCZNY  
w LUBLINIE

**dr hab. Joanna Listos**

.....  
Katedra i Zakład Farmakologii z  
Farmakodynamiką  
Wydziału Farmaceutycznego  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin  
tel. 81 448 72 53  
e-mail: a.listos@umlub.pl

## **O C E N A**

### **pracy doktorskiej mgr Marty Skórka-Majewicz pt. *Wpływ fluoru na tkanki endokrynne szczura***

Mimo prowadzonych od wielu lat badań nad wpływem fluoru na organizm człowieka jego rola w metabolizmie nie jest jednoznacznie zdefiniowana. Często wskazuje się na pozytywną rolę fluoru, jako czynnika potencjalnie zapobiegającego procesowi próchnicy zębów. Z drugiej strony, eksperymentalnie potwierdzono, że długotrwała ekspozycja szczurów na niskie dawki fluoru stymuluje stres oksydacyjny i może zaburzać funkcjonowanie organizmu. Istnieją badania wskazujące na neurotoksyczne działanie fluoru, które sprzyja rozwijaniu chorób neurodegeneracyjnych. Znacznie mniej wiadomo, czy długotrwała ekspozycja na fluor ma wpływ na funkcjonowanie narządów endokrynnych. Biorąc pod uwagę fakt, że fluor ma wpływ na aktywność różnych układów enzymatycznych, aktywność mitochondriów oraz na przepuszczalność wewnątrzkomórkową, można przypuszczać, że długotrwała ekspozycja na ten pierwiastek może zaburzać fizjologiczną pracę różnych komórek, w tym komórek gruczołowych. Zatem badania mające na celu poznanie wpływu przewlekłej ekspozycji zwierząt na jony fluoru na aktywność gruczołów endokrynnych są uzasadnione, a oceniana rozprawa doktorska wpisuje się w ten nurt badań.

Przedłożona do recenzji praca doktorska ma powszechnie akceptowany układ. Obejmuje ona 105 stron oprawionego, jednostronnego wydruku komputerowego formatu A4. Składa się z 21-stronicowego Wstępu, Uzasadnienia podjęcia problemu badawczego opisanego na 2 stronach, rozdziału Materiał i Metody, który przedstawiono na 7 stronach. Uzyskane wyniki badań opisano na 26 stronach, zawierają one 23 ryciny (nazwane przez Autorkę jako wykresy). Dyskusję opisano na 13 stronach. Wnioski, sformułowane w 6 punktach, zostały przedstawione na 1 stronie. Streszczenie pracy napisane w języku polskim i angielskim obejmuje 4 strony. Rozprawę zamyka wykaz cytowanego piśmiennictwa przedstawionego na 20 stronach. Pracę uzupełnia Wykaz rycin (4 strony), obszerny Wykaz skrótów (4 strony) oraz Spis treści (3 strony). Praca została przedstawiona w sposób bardzo staranny, nie mam zastrzeżeń do jej kompozycji i strony graficznej.



We Wstępie dysertacji, który jest podzielony na podrozdziały, Autorka opisała znaczenie fluoru w organizmie z uwzględnieniem jego toksycznego działania. Ponadto, opisała funkcjonowanie i regulację układu hormonalnego oraz przedstawiła aktualny stan wiedzy na temat toksyczności fluoru na poszczególne gruczoły. Opisała także pochodne wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, które powstają podczas stanu zapalnego w szlaku cyklooksygenazy oraz lipooksygenazy a także przedstawiła aktualny stan wiedzy na temat wpływu fluorków na rozwój stanu zapalnego. Dodatkowo, w tabeli Autorka zebrała wiadomości na temat funkcji poszczególnych pochodnych kwasów tłuszczowych. Wstęp napisany jest rzeczowo i starannie. Doktorantka wykazała się dużą znajomością piśmiennictwa.

Mam jednak 3 zastrzeżenia do tej części pracy. Po pierwsze, moim zdaniem, pomiędzy poszczególnymi podrozdziałami Wstępu brakuje powiązań przyczynowo-skutkowych. Po drugie, Autorka szczegółowo opisała wpływ fluoru na poszczególne gruczoły oraz szlak cyklo- i lipooksygenazy tak, że czytelnik ma wrażenie, że wszystko w tym zakresie zostało już poznane i prowadzenie dalszych badań nie ma sensu. Autorka nie podkreśliła tego, co jest istotne do zbadania; co wskazywałoby na potrzebę podjęcia dalszych badań. Po trzecie, załączona we Wstępie rycina (nazwana przez Doktorantkę jako rysunek – moim zdaniem nie jest to rysunek) przedstawiająca szlaki przemian cyklooksygenazy i lipooksygenazy jest w języku angielskim oraz nie ma zacytowanego piśmiennictwa.

Kolejny rozdział to Uzasadnienie podjęcia problemu badawczego, który składa się z 3 podrozdziałów: Hipotezy badawczej, Celu pracy badawczej oraz Celów szczegółowych. Rozdział ten jest prawidłowo przedstawiony, hipoteza badawcza i cel pracy są prawidłowo sformułowane. Nie mam zastrzeżeń do tej części pracy.

Rozdział „Materiał i Metody” składa się z podrozdziałów. Jak Autorka podała, badania zostały przeprowadzone na modelu zwierzęcym, w którym szczury były poddane długotrwałej ekspozycji na jony fluoru (fluorek sodu), tj. zarówno w okresie płodowym jak i pourodzeniowym, aż do okresu dorosłości (12 tydzień życia). Dawka fluoru została dobrana tak, aby odpowiadała dawce, na którą są narażeni ludzie zagrożeni fluorozą. Po okresie ekspozycji na fluor zwierzęta były uśmiercane, a następnie pobierano od nich tkanki, tj. tarczycę, przytarczycę, trzustkę, nadnercza oraz krew. Badania te zostały przeprowadzone za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej. Nie mam zastrzeżeń do tej części metodyki badań.

Z pobranych tkanek zostały przygotowane próbki do badań biochemicznych i molekularnych. Za pomocą metody immunoenzymatycznej oznaczano stężenie hormonów dokrewnych, tj. trijodotyroniny, tyroksyny, tyreotropiny, parathormonu, glukagonu, insuliny, somatostatyny i



kortyzolu w surowicy krwi. Oznaczano także stężenie wapnia w surowicy krwi. Ponadto dokonano analizy stężenia jonów fluoru w homogenatach tkankowych oraz w surowicy krwi za pomocą metody potencjometrycznej. Przeprowadzono również pomiar stężenia pochodnych kwasów tłuszczowych w w/w tkankach endokrynych za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Określono także pomiar całkowitego stężenia białka w homogenatach tkankowych. Wszystkie zastosowane metody badawcze są obecnie powszechnie wykorzystywane w biologii molekularnej. Metody zostały prawidłowo dobrane i opisane. Umiejętność przeprowadzenia tak różnorodnych oznaczeń świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do dalszej pracy naukowej. Dwie ryciny, przedstawiające graficznie procedury eksperymentalne, znacznie zwiększają przejrzystość tekstu.

Autorka opisała również statystyczną analizę wyników. Najpierw zbadała rozkład danych, a ponieważ odbiegał on od rozkładu normalnego, do dalszej analizy wykorzystowała test nieparametryczny. Analizę statystyczną Doktorantka przeprowadziła i opisała prawidłowo, chociaż nie podała liczby próbek (N) wykorzystanych do analizy statystycznej.

Podsumowując tę część pracy należy podkreślić, że materiał i metodyka badań zostały właściwie dobrane i pozwoliły na rozwiązanie założonego problemu badawczego. Badania te wpisują się w nurt nowoczesnych osiągnięć biologii molekularnej, wymagają specjalistycznej aparatury, a umiejętność ich przeprowadzenia wskazuje na wysoki potencjał Doktorantki w obszarze działalności naukowej. Wszystkie procedury eksperymentalne zostały wyczerpująco opisane, a analiza statystyczna wyników została przeprowadzona prawidłowo.

Tak szeroki wachlarz podjętych badań pozwolił uzyskać interesujące wyniki. Wyniki badań zostały przedstawione na 23 starannie przygotowanych rycinach, które Autorka błędnie nazwała jako „Wykresy”. Doktorantka wykazała, że pod wpływem długotrwałej ekspozycji na fluor dochodzi do zmian w stężeniu wybranych hormonów dokrewnych w surowicy krwi. Obserwowała zmniejszenie stężenia tyreotropiny, parathormonu, somatostatyny, insuliny, a wzrost stężenia tyroksyny i prostaglandyny PGE<sub>2</sub>. Wykazała także, że długotrwała ekspozycja na jony fluoru zmienia fizjologiczną zawartość pochodnych kwasów tłuszczowych, co może mieć wpływ na powstawanie stanu zapalnego.

Jako ostatnie, zostały przedstawione wyniki analizy potencjometrycznej stężenia jonów fluoru w badanych tkankach. Moim zdaniem, ta grupa badań, pokazująca zawartość fluoru w badanych tkankach po długotrwałej ekspozycji, jest kluczową grupą badań niniejszej dysertacji i, mimo, że Doktorantka nie wykazała statystycznie istotnych różnic w zawartości fluoru w badanych tkankach pomiędzy grupą zwierząt kontrolną a badaną, badania te powinny być opisane jako pierwsze. Również w rozdziale Dyskusja wynik ten powinien być bardziej wnikliwie przedyskutowany, np. Autorka powinna rozważyć potencjalne



mechanizmy, które zapobiegają kumulacji fluoru w gruczołach (mechanizmy wypierania fluoru z komórki, kumulacja w kościach, inne). Czy są inne możliwości oznaczania fluoru w gruczołach?

Uzyskane wyniki badań jednoznacznie wskazują, że długotrwała ekspozycja na jony fluoru zaburza funkcjonowanie organizmu, przyczynia się do indukcji stanu zapalnego oraz zaburzeń endokrynnych, co stanowi potwierdzenie założonej hipotezy.

Rozdział „Dyskusja” został podzielony na podrozdziały. W oparciu o liczne i aktualne doniesienia naukowe Autorka zanalizowała uzyskane wyniki. To, co bardzo chcę podkreślić, to fakt, że Autorka przeprowadziła bardzo szeroki panel badań, a w związku z tym, przedyskutowanie tak zróżnicowanych wyników nie było łatwe. Podział Dyskusji na poszczególne podrozdziały uważam za bardzo dobry pomysł. Doktorantka dokonała analizy wyników własnych w kontekście badań innych autorów, wykazała się rozległą znajomością literatury. Brakuje mi jednak głębszej analizy problemu i przewidywania skutków ekspozycji fluorem.

Wnioski zostały sformułowane w formie 6 punktów. Jako pierwszy wniosek, co oceniam pozytywnie, Autorka wymieniła, że długotrwała ekspozycja na jony fluoru nie ma wpływu na kumulację tego pierwiastka w gruczołach. W punkcie 4, Doktorantka nie sprecyzowała, w których gruczołach zachodzą zmiany.

Ponadto, praca zaopatrzona jest w piśmiennictwo, które nie zostało ponumerowane i nie zostało opracowane według jednego schematu edytorskiego. Praca zawiera obszerny Wykaz skrótów, ale w tekście znajdują się skróty, które nie były nigdzie wyjaśnione (np. str.71 – GST, TBARS).

Z obowiązku recenzenta muszę wspomnieć o dość licznych błędach stylistycznych i interpunkcyjnych. Błędy te, nie mają znaczenia merytorycznego i nie wpływają na jakość dysertacji.

Wskazane przeze mnie uwagi nie mają wpływu na całość pracy, ale, mam nadzieję, że będą istotną wskazówką podczas przygotowywania pracy do publikacji oraz w dalszej pracy naukowej. Zaprezentowaną pracę doktorską oceniam pozytywnie. Moim zdaniem spełnia ona wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim w dziedzinie: nauki medyczne i nauki o zdrowiu, w dyscyplinie: nauki medyczne.



Z pełnym przekonaniem uważam, że przedłożona rozprawa spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim w myśl ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym, oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789 ze zm.) i Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. z 2018 r, poz.261). Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne PUM o dopuszczenie mgr Marty Skórka-Majewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Joanna Listos*