



Gdańsk, 22 październik 2018 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Michaela Allena Thoene

pt. „Wpływ bisfenolu A na neurochemiczną charakterystykę śródwątrobowych włókien nerwowych na dużym modelu zwierzęcym”.

Bisfenol A (BPA) jest powszechnie używanym związkiem organicznym stosowanym do produkcji poliwęglanów oraz żywic epoksydowych o bardzo szerokim spektrum zastosowań, m. in. produkcji różnego rodzaju opakowań do przechowywania żywności (plastikowych, powłoka wewnętrzna puszek), tworzyw sztucznych i produkcji papieru termicznego do drukarek fiskalnych. Należy nadmienić, że budowa BPA jest zbliżona do żeńskiego hormonu płciowego – estrogenu, stąd też może łączyć się z receptorami estrogenu i oddziaływać na funkcjonowanie gospodarki hormonalnej. Wyniki wielu badań eksperymentalnych i obserwacyjnych u ludzi wskazują, że BPA może zwiększać ryzyko otyłości, cukrzycy typu 2, chorób serca, zaburzeń hormonalnych tarczycy, układu rozrodczego i układu nerwowego. Istnieją doniesienia literaturowe, że BPA może skutkować rozwojem nowotworów złośliwych, w tym raka piersi i prostaty.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Michaela Allena Thoene posiada następujący układ, który obejmuje streszczenia w języku polskim/angielskim, wprowadzenie, cel pracy, wnioski, piśmiennictwo i załączone publikacje składające się na rozprawę doktorską. Rozprawa została przygotowana w sposób staranny, co umożliwiło przejrzyste przedstawienie badanego zagadnienia oraz danych zebranych przez Doktoranta.

Rozprawa doktorska mgr Michaela Allena Thoene stanowi cykl czterech prac, opatrzonych wspólnym tytułem: „Wpływ bisfenolu A na neurochemiczną charakterystykę śródwątrobowych włókien nerwowych na dużym modelu zwierzęcym”;

1. Thoene M, Rytel L, Borowiak N, Wojtkiewicz J (2018) The State of Bisphenol Research in the Lesser Developed Countries of the EU: a Mini-Review. *Toxicology Research* 3/2018 doi:10.1039/C8TX00064F; 1,969 IF/25.
2. Thoene M, Rytel L, Dzika E, Włodarczyk A, Kruminis-Kaszkiel E, Ptaszynski K, Wojtkiewicz J (2017) Bisphenol A Causes Liver Damage and Selectively Alters the Neurochemical Coding of Intrahepatic Parasympathetic Nerves in Juvenile Porcine Models under Physiological Conditions. *Int J Mol Sci.* 2017 Dec 15; 18(12). pii: E2726. doi: 10.3390/ijms18122726; 3,226 IF/30.
3. Thoene M, Rytel L, Dzika E, Gonkowski I, Włodarczyk A, Wojtkiewicz J (2018) Immunohistochemical characteristics of porcine intrahepatic nerves under physiological conditions and after Bisphenol A administration. *Folia Morphol (Warsz).* 2018 Mar 23. doi: 10.5603/FM.a2018.0027. [Epub ahead of print] doi: 10.5603/FM.a2018.0027; 0,341 IF/15.
4. Thoene M, Godlewski J, Rytel L, Dzika E, Bejer-Oleńska E, Wojtkiewicz J (2018) Alterations in porcine intrahepatic sympathetic nerves after bisphenol A administration. *Folia Histochem Cytobiol.* 2018. doi: 10.5603/FHC.a2018.0012; 1,389 IF/15.

Prace te były opublikowane w 2018 roku i we wszystkich czterech publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem. Łączna punktacja *Impact Factor* przedstawionego cyklu czterech publikacji będących przedmiotem rozprawy wynosi **6,925**, a punktacja KBN/MNiSW wynosi **85**. Wszystkie te publikacje są efektem współpracy wielu autorów. Doktorant określił swój udział autorski na 70% w trzech oryginalnych pracach naukowych i na 83% w jednej publikacji, która stanowi pracę poglądową.

Myślą przewodnią przestawionego cyklu prac było określenie wpływu wysokich i niskich (dozwolonych prawodawstwem Europejskim) dawek BPA na unerwienie współczulne i przywspółczulne wątroby na dużym modelu zwierzęcym. Do badań Doktorant wybrał świnię domową ze względu na podobieństwa w układzie pokarmowym do człowieka. Celem pracy było określenie wpływu BPA na wzory neurochemicznego unerwienia

współczulnego i przywspółczulnego wątroby w modelu zwierzęcym. Ze względu na negatywny wpływ BPA na organizm żywy podczas długotrwałej (wieloletniej) i kilku tygodniowej ekspozycji na tę substancję, Doktorant badał czy (1) uznawane za bezpieczne niskie dawki BPA wpływają na wewnątrzwątrobowe włókna nerwowe oraz jak organizm modelowy reaguje w przypadku zwiększonych dawek BPA. Kodowanie chemiczne współczulnych i przywspółczulnych śródwątrobowych włókien nerwowych zostało zbadane przy użyciu techniki podwójnych i pojedynczych barwień immunofluorescencyjnych z wykorzystaniem przeciwciał przeciwko β -hydroksylazie dopaminy (DBH; marker dla układu współczulnego), transkryptu regulowanego przez *kokainę* i amfetaminę (CART), substancji P (SP), peptydu pochodnego genu kalcytoniny (CGRP), galaniny (GAL), polipeptydu aktywującego przysadkową cyklazę adenylanową (PACAP), oraz pęcherzykowy nośnik acetylocholinę (VACHT; marker układu przywspółczulnego).

Wnioski wyciągnięte przez Doktoranta na podstawie przeprowadzonej analizy udokumentowanych wyników własnych i ich konfrontacji z bieżącym stanem wiedzy zwracają uwagę na najistotniejsze cztery punkty końcowe uzyskane w badaniu, które zostały sformułowane właściwie i przedstawiają się następująco:

1. Osoczowe stężenie markerów wątrobowych (aminotransferaza alaninowa (ALT) i aminotransferaza asparaginianowa (AST)) u młodych zwierząt z grupy eksperymentalnej różni się istotnie statystycznie od jej stężenia w grupie kontrolnej.
2. Wykazano zmiany w strukturze tkanki wątrobowej w badaniach histologicznych przy niskiej oraz wysokiej dawce bisfenolu A.
3. DBH był wykorzystany jako marker przy ocenie zmian w kodowaniu chemicznym włókien śródwątrobowych współczulnych po podaniu bisfenolu A. Obserwowano wzrost ekspresji we włóknach takich substancji jak: CART, GAL.
4. VACHT był wykorzystany jako marker przy ocenie zmian w kodowaniu chemicznym włókien śródwątrobowych przywspółczulnych. W wyniku prowadzonych badań zaobserwowano znacząco ekspresje w tych włóknach takich substancji jak: CART, GAL, PACAP.

Doktorant po raz pierwszy wykazał, że zarówno niska jak i wysoka dawka BPA wpływają na kodowanie chemiczne włókien śródwątrobowych, co może prowadzić do

funkcjonalnych zmian narządowych. Doktorant wykazał silne działanie BPA na wewnątrzwątrobowe włókna współczulne, co może mieć wpływ na zmiany metabolizmu i wpływać na zmiany w zachowaniu młodzieży. Doktorant zauważył, że nawet przy niskiej dawce BPA (zgodnej z poziomem tzw. bezpiecznym) dochodzi do pobudzenia układu współczulnego. Należy podkreślić, aktywność współczulna jest kluczowym mechanizmem inicjującym szereg niekorzystnych następstw w układzie sercowo-naczyniowym, metabolicznym i behawioralnym, co może mieć szczególne znaczenie przy długotrwałej ekspozycji na ten związek chemiczny. Doktorant również wykazał, że BPA wywiera zmiany w kodowaniu chemicznym włókien przywspółczulnych, co może mieć wpływ na zaburzenie równowagi między układem współczulnym i przywspółczulnym. Doustne podanie BPA prowadziło także do uszkodzenia wątroby, które było wprost proporcjonalne do zwiększania poziomów ekspozycji na ten związek.

We wniosku końcowym stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Michaela Allena Thoene pt. *„Wpływ bisfenolu A na neurochemiczną charakterystykę śródwątrobowych włókien nerwowych na dużym modelu zwierzęcym”* stanowi nowatorskie badanie naukowe, o czym świadczą uzyskane wyniki opublikowane w czasopiśmie z listy filadelfijskiej. Mgr Michael Allen Thoene podjął w swojej rozprawie temat o bardzo dużym znaczeniu z punktu widzenia mechanizmów patofizjologicznych leżących u podłoża działania BPA na wątrobę świni, co może pozwolić zrozumieć działanie BPA na zdrowie człowieka. Niniejsze publikacje oraz zastosowany warsztat metodologiczny mogą posłużyć zaplanowaniu dalszych badań ukierunkowanych na działanie bisfenoli na tkanki i narządy. Doktorant sumiennie udokumentował w swojej rozprawie doktorskiej wiedzę, znajomość problematyki niekorzystnego działania BPA na wzory neurochemicznego unerwienia współczulnego i przywspółczulnego wątroby oraz umiejętność warsztatu naukowego i pisanie manuskryptów.

W mojej ocenie stwierdzam, że „Rozprawa doktorska Mgr Michaela Allena Thoene w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz.U. 2016 poz. 882 z późn. zm). W związku z powyższym składam przed Wysoką Radą Naukową Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie Collegium Medicum, wniosek o dopuszczenie Mgr Michaela Allena Thoene do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z uwagi na

fakt, że praca ta wnosi znaczący nowatorski wkład w dotychczasową wiedzę, wyróżnia się oryginalnością, a uzyskane wyniki zostały już opublikowane w impaktowanych czasopismach z listy filadelfijskiej, składam do Wysokiej Rady Naukowej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wniosek o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej.

dr hab. n. med. Dagmara Hering
prof. nadzw. GUMed
specjalista chorób wewnętrznych
hipertensjolog
1308669



Dr hab. n. med. Dagmara Hering, prof. GUMed
Klinika Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii
Gdański Uniwersytet Medyczny