

Łódź, dnia 29.04.2024 r.

Dr hab. Tomasz Kowalczyk, prof. UŁ
Katedra Neurobiologii
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Angeliki Klimek pt. ***Wpływ pola elektromagnetycznego o niskiej częstotliwości (50 Hz) na status oksydacyjny i reakcje stresowe u szczura – efekt hormezy***, wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Justyny Rogalskiej w Katedrze Fizjologii Zwierząt i Neurobiologii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Promotorem pomocniczym w postępowaniu doktorskim był dr hab. Łukasz Peplowski, prof. UMK.

1/ Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska ma typowy układ pracy opartej na cyklu artykułów naukowych i składa się z czterech publikacji oraz powstałego na podstawie wyników przeprowadzonych badań opracowania w języku polskim.

Artykułami stanowiącymi podstawę rozprawy Pani mgr Angeliki Klimek są:

1/ Praca przeglądowa: A. Klimek, J. Rogalska; *Extremely Low-Frequency Magnetic Field as a Stress Factor - Really Detrimental? - Insight into Literature from the Last Decade*. Brain Sciences, 2021, 11(2): 174; IF: 3,13; MEiN: 100;

2/ Praca oryginalna: A. Klimek, A. Nowakowska, H. Kletkiewicz, J. Wyszowska, J. Maliszewska, M. Jankowska, L. Peplowski, J. Rogalska; *Bidirectional Effect of Repeated Exposure to Extremely Low-Frequency Electromagnetic Field (50 Hz) of 1 and 7 mT on*

Oxidative/Antioxidative Status in Rat's Brain: The Prediction for the Vulnerability to Diseases. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022(2): 1-14; IF: 7,31; MEiN: 100.

3/ Praca oryginalna: A. Klimek, H. Kletkiewicz, A. Siejka, J. Wyszowska, J. Maliszewska, M. Klimiuk, M. Jankowska, J. Seckl, J. Rogalska; *New view on the impact of the low-frequency electromagnetic field (50 Hz) on stress responses – hormesis effect.* Neuroendocrinology, 2023;113(4): 423-441; IF: 4,10; MEiN: 100;

4/ Praca oryginalna: A. Klimek, H. Kletkiewicz, A. Siejka, J. Wyszowska, J. Maliszewska, M. Klimiuk, M. Jankowska, J. Rogalska; *The electromagnetic field (50 Hz) can establish a new "set-point" for the activity of the locus coeruleus–noradrenergic (LC-NA) system in rat.* Praca złożona do redakcji.

We wszystkich czterech pracach wchodzących w skład ocenianej rozprawy doktorskiej mgr. Klimek jest pierwszym autorem, dodatkowo w trzech pracach eksperymentalnych jest również autorem korespondencyjnym. Do publikacji Doktorantka dołączyła oświadczenia, z których treści wynika, iż w przypadku wszystkich przedstawionych artykułów jej udział w planowaniu prac eksperymentalnych, prowadzeniu badań, analizie danych i powstawaniu manuskryptów można uznać za wiodący. Prace, będące podstawą rozprawy opublikowane zostały we wiodących czasopismach neurobiologicznych z listy JCR, na co wskazuje ich wysoki współczynnik oddziaływania IF, odpowiednio 3,13, 7,31 i 4,10 (ostatnia z prac została przesłana do czasopisma o IF = 3.3). Podsumowując, artykuły naukowe przedstawione przez Panią mgr Angelikę Klimek spełniają, w mojej opinii, wszelkie formalne wymogi stawiane rozprawom doktorskim przygotowywanym, jako cykl publikacji.

Drugą, integralną częścią ocenianej rozprawy doktorskiej jest przygotowane w języku polskim opracowanie, które zawiera syntetyczne wprowadzenie do podjętej tematyki badawczej, wyodrębnione cele badań wraz przyjętymi hipotezami, opis zastosowanej metodyki, omówienie uzyskanych wyników prac eksperymentalnych, wnioski, bibliografię, oraz streszczenia: w języku polskim i angielskim. Układ tej części ocenianej pracy również spełnia wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim powstałym na podstawie badań eksperymentalnych opublikowanym w cyklu artykułów naukowych.

2/ Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Wpływ czynników antropogenicznych na wszelkie gatunki roślin i zwierząt czy całe ekosystemy staje się w ostatnich dziesięcioleciach przedmiotem intensywnych badań prowadzonych przez specjalistów z różnych dziedzin nauki. Zanieczyszczenie środowiska naturalnego związkami chemicznymi, światłem, hałasem i innymi „efektami ubocznymi” rozwoju cywilizacji ma bezpośredni, bardzo często wysoce szkodliwy, wpływ również na samego człowieka. Jednym z istotnych czynników, będących bezpośrednim skutkiem rozwoju technologicznego, który może wpływać w sposób negatywny na organizmy zwierzęce, w tym ludzki, jest narażenie na przebywanie w zasięgu pola elektromagnetycznego o niskiej częstotliwości (EMF). Ze względu na powszechne występowanie tego pola, generowanego przez „oplatającą nas” zewsząd sieć przewodów elektrycznych a także wszelkie urządzenia elektryczne używane w codziennym życiu, określenie wpływu ekspozycji na EMF, na odpowiedź stresową organizmu i funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego wydaje się być bardzo istotnym zagadnieniem badawczym. Analizy tego właśnie problemu podjęła się w swoich badaniach Pani mgr Angelika Klimek. Tematyka przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej związana jest z próbą odpowiedzi na pytanie, czy wpływ pola elektromagnetycznego o niskiej częstotliwości na zmiany hormonalne, behawioralne i plastyczność ośrodkowego układu nerwowego może mieć charakter heterogenny, zależny od natężenia tego pola, a jeśli tak, to jakie mechanizmy mogą leżeć u podstaw zaobserwowanej hormezy.

2.1/ Publikacje wchodzące w skład rozprawy

W pierwszej z przedstawionych prac (*New view on the impact of the low-frequency electromagnetic field (50 Hz) on stress responses – hormesis effect*) Doktorantka dokonała przeglądu aktualnej wiedzy literaturowej (w szczególności z ostatniej dekady) dotyczącej wpływu pola elektromagnetycznego o niskiej częstotliwości (EMF) na metabolizm, stres oksydacyjny, mechanizmy neuroprotekcjne, zjawiska plastyczności w OUN i neurogenezę, zmiany poziomu neurotransmisji oraz uwalniania hormonów a także zachowania emocjonalne. Opracowanie to stoi na wysokim poziomie merytorycznym, stanowiąc

obszernie, rzeczowe i aktualne zestawienie najnowszej wiedzy literaturowej związanej z omawianym tematem. W drugiej pracy wchodzącej w skład rozprawy (*Bidirectional Effect of Repeated Exposure to Extremely Low-Frequency Electromagnetic Field (50 Hz) of 1 and 7 mT on Oxidative/Antioxidative Status in Rat's Brain: The Prediction for the Vulnerability to Diseases*) Doktorantka analizowała zmiany w poziomie stresu oksydacyjnego i markerów obrony antyoksydacyjnej w korze przedczołowej szczurów po ekspozycji na pole elektromagnetyczne o różnym natężeniu, a także wpływ wielokrotnej ekspozycji na EMF na modyfikację odpowiedzi organizmu na kolejne bodźce stresowe. Uzyskane wyniki pozwoliły wykazać, że wielokrotna ekspozycja zwierząt na pole elektromagnetyczne o niskiej częstotliwości (50 Hz) prowadziła do widocznych zmian statusu oksydacyjnego badanych rejonów OUN, przy czym efekt ten zależny był od natężenia pola. Narażanie na EMF o natężeniu 1 mT prowadziło jedynie do niewielkich zmian natomiast pole o natężeniu 7 mT wywoływało wysokie zmiany w statusie oksydacyjnym. Dodatkowo przeprowadzone badania pozwoliły stwierdzić, że wcześniejsza ekspozycja na EMF o niskim natężeniu może wpływać protekcyjnie na poziom stresu oksydacyjnego wywołanego kolejnym stresem, natomiast EMF o natężeniu 7 mT prowadzi do uwrażliwienia i intensyfikacji procesów patologicznych powstających w odpowiedzi na kolejny bodziec stresowy.

W trzeciej pracy wchodzącej w skład rozprawy (*New view on the impact of the low-frequency electromagnetic field (50 Hz) on stress responses – hormesis effect*) Pani Magister postawiła sobie za cel określenie, czy ekspozycja na pole elektromagnetyczne o niskiej częstotliwości wykazuje dwukierunkowe działanie w kontekście aktywacji osi HPA w zależności od jego natężenia oraz czy wielokrotna ekspozycja zwierząt na EMF zmienia odpowiedź stresową organizmu na kolejne niezwiązane z EMF stresory. Uzyskane wyniki pozwoliły określić, że obecność pola elektromagnetycznego o niskiej częstotliwości może dwukierunkowo wpływać na aktywność osi HPA, a czynnikiem warunkującym odmienną odpowiedź jest natężenie pola i liczba ekspozycji na jego oddziaływanie. Doktorantka wykazała, iż ekspozycja na EMF o natężeniu 1 mT prowadzi do zmian adaptacyjnych w kontekście odpowiedzi na kolejny bodziec stresowy, natomiast narażanie na EMF o natężeniu 7 mT wywołuje uwrażliwienie na kolejne stresory. Kolejną istotną obserwacją Pani mgr Angeliki Klimek było wykazanie zwiększenia ekspresji receptorów

mineralokortykosteroidowych w formacji hipokampa badanych zwierząt, co może wskazywać na potencjalny, neuroprotekcyny efekt ekspozycji na EMF o niskim natężeniu (1 mT). W ostatniej pracy (*The electromagnetic field (50 Hz) can establish a new "set-point" for the activity of the locus coeruleus–noradrenergic (LC-NA) system in rat*) Doktorantka badała wpływ pola elektromagnetycznego o niskiej częstotliwości na aktywność systemu noradrenergicznego miejsca sinawego w powiązaniu z odpowiedzią na kolejne bodźce stresowe. Uzyskane dane pozwoliły wykazać, że ekspozycja na EMF prowadzi do aktywacji układu i zwiększenia uwalniania noradrenaliny, przy czym częstotliwość pola miała znaczący wpływ na charakter obserwowanych zmian. EMF o niskiej częstotliwości wywoływało przejściowe zmiany poziomu neurotransmisji noradrenergicznej, natomiast ekspozycja na EMF o częstotliwości 7 mT prowadziła do długotrwałych zmian i nadaktywności systemu noradrenergicznego miejsca sinawego w odpowiedzi na kolejne bodźce stresowe. Pani Magister udowodniła dodatkowo, iż narażenie zwierzęcia na oddziaływanie EMF o wysokiej częstotliwości prowadzi do znaczącego spadku ekspresji receptorów β 2-adrenergicznych w obrębie formacji hipokampa (co może skutkować zaburzeniami zjawisk plastyczności obserwowanych w tej strukturze), zaobserwowała również intensyfikację zachowań lekowych zwierząt w testach behawioralnych.

Wyniki uzyskane w ramach badań Pani mgr Angeliki Klimek opublikowane zostały w czasopiśmie o wysokim poziomie naukowym. Wszystkie prezentowane prace opatrzone są rzeczowym wprowadzeniem, metodyka badań oraz ich wyniki zaprezentowane zostały w sposób przejrzysty i klarowny a otrzymane dane przedyskutowano krytycznie w świetle najnowszej literatury tematu. Konkludując, pod względem merytorycznym, część publikacyjną recenzowanej rozprawy doktorskiej oceniam bardzo wysoko.

2.1/ Opracowanie w języku polskim

Jak wspominałem wcześniej, przedstawiony przez Doktorantkę opis w języku polskim ma klasyczny układ, charakterystyczny dla tego typu opracowań.

Wprowadzenie. Teoretyczne tło badań prezentowanych w recenzowanej rozprawie doktorskiej przedstawione zostało w liczącym 10 stron wprowadzeniu, w którym w opisane

zostały merytoryczne podstawy podjętych przez Doktorantkę prac. W tej części opracowania Pani mgr Angelika Klimek przedstawia charakterystykę pola elektromagnetycznego i jego oddziaływań na organizmy zwierzęce, w szczególności w kontekście generowania steru oksydacyjnego, opisała pole elektromagnetyczne o niskiej częstotliwości jako czynnik stresogenny oraz przedstawiła zarys heterogennego oddziaływania EMF. Zarówno pod względem merytorycznym jak i formalnym tę część opracowania oceniam pozytywnie.

Uwagi.

1/ W kilku miejscach wprowadzenia, ale również w kolejnych częściach opracowania, pojawia się określenie „odpowiedź na stres” (np. str. 12, 14, 15 i in.). Uważam, iż jest to zbyt daleko idący skrót myślowy, nieuprawniony w tego typu opracowaniach. Stres, niezależnie od poziomu organizacji układu biologicznego jest stanem organizmu, tkanki czy komórki, który jest związany z odpowiedzią na bodźce prowadzące do jego powstawania (stresory), sam w sobie nie może być zatem traktowany, jako bodziec na który dany układ biologiczny odpowiada.

2/ Na stronie 14 pojawia się wyjaśnienie skrótów (GPX, CAT, SOD), które zostały już przedstawione na stronie poprzedniej

3/ Opis ośrodkowej i obwodowej odpowiedzi organizmu na bodźce stresowe zamieszczony na str. 14 (*EMF jako czynnik stresowy*) został przedstawiony dość skrótowo, co może prowadzić do błędnych jego interpretacji. W początkowych zdaniach Doktorantka przedstawia pobudzenie układu współczulno-noradrenergicznego, prowadzące do uwalniania noradrenaliny do krwioobiegu. W kolejnym zdaniu, w tym samym akapicie pisze, iż: „*Noradrenergiczna odpowiedź na bodziec stresowy jest kontrolowana głównie przez neurony jądra sinawego (ang. locus coeruleus; LC), które jest głównym miejscem syntezy noradrenaliny (NA). System noradrenergiczny miejsca sinawego (LC-NA) wywiera szeroki wpływ na obwody neuronalne*”. Tak prowadzona wypowiedź, może sugerować, że pula noradrenaliny wydzielana obwodowo do krwioobiegu z rdzenia nadnerczy może oddziaływać ośrodkowo na obwody neuronalne ośrodkowego układu nerwowego.

4/ Uważam, że odbiór wprowadzenia oraz pozostałych części opracowania byłby znacznie ułatwiony, gdyby Autorka wprowadziła na jego początku wykaz stosowanych skrótów.

Cele i hipotezy. W tym podrozdziale Doktorantka przedstawiła cztery hipotezy badawcze, które postanowiła zweryfikować poprzez realizację czterech korespondujących z hipotezami celów. Zaprezentowane przez Panią mgr Klimek hipotezy mają solidne postawy merytoryczne cele pracy zostały jasno sprecyzowane.

Materiał i metody. W tej części opracowania Pani Magister scharakteryzowała wykorzystane procedury doświadczalne i analityczne. Ich szczegółowy opis zawierają prace z wynikami oryginalnymi. Zamieszczony tekst dostarcza najważniejszych informacji o wykorzystanych zwierzętach, aparaturze i procedurze doświadczalnej, przeprowadzonych badaniach oraz sposobie analizy uzyskanych danych. Oceniam tę część opracowania pozytywnie.

Uwagi.

1/ Przedstawiono łączną liczbę zwierząt wykorzystanych w przeprowadzonych badaniach (180), brak jest informacji o liczebności poszczególnych sześciu grup eksperymentalnych (zakładam, że każda grupa liczyła 30 osobników, ale informacja ta nie została podana)

2/ Na str. 24/25 (*Procedura doświadczalna*) Pani Magister przedstawia informację, że część zwierząt z grupy została poddana eutanazji w celu pobrania tkanek, a część przeszła testy behawioralne. Nie podano informacji jak liczne były te „części”.

3/ Wyrażenie „trzytygodniowe odstępy czasu” jest pleonazmem, poprawnym byłoby mówienie o trzytygodniowych odstępach.

4/ Brak jest informacji gdzie umieszczano zwierzęta w teście podwyższonego labiryntu krzyżowego (informacja ta pojawia się w przypadku testu otwartego pola).

Omówienie wyników. Na ośmiu stronach tej części pracy Pani mgr Angelika Klimek przedstawiła podsumowanie wyników przeprowadzonych badań eksperymentalnych, opublikowanych w pracach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej i ich dyskusję w świetle aktualnej literatury tematu. Tę część przedstawionego do recenzji opracowania oceniam bardzo pozytywnie. Doktorantka w sposób jasny i klarowny przedstawiła wyniki swoich badań i w sposób wskazujący na bardzo dobre przygotowanie merytoryczne zestawiała je z danymi literaturowymi.

Uwagi.

1/ W prowadzonych przez siebie badaniach Doktorantka wykazała, że ekspozycja na EMF o natężeniu 1 mT może prowadzić do aktywacji mechanizmów związanych ochroną organizmu przed przyszłymi stresorami, natomiast pole o natężeniu 7 mT wywołuje natychmiastowe zmiany negatywne i uwrażliwienie na przyszłe bodźce stresowe. W swoich badaniach Pani Magister, jako „kolejne” bodźce stresowe stosowała ekspozycję zwierząt na testy behawioralne. Chciałbym zapytać, czy Doktorantka nie myślała o przeprowadzeniu badań, w których ekspozycja na ETM o natężeniu 1 mT miałyby działać protekcyjnie w kontekście późniejszej ekspozycji na ETM natężeniu 7 mT.

2/ Po zaznajomieniu się z całością opracowania przedstawionego przez Panią mgr Angelikę Klimek, chciałbym poznać jej zdanie na temat prawdopodobnego wpływu ETM na organizm ludzki, czy może ono nieść potencjalne zagrożenia, skoro, jak stwierdziła sama Doktorantka, rozwój cywilizacji spowodował niemal ciągłe narażanie ludzi na ten rodzaj oddziaływania środowiskowego.

Streszczenie i Abstract. Rozdziały zostały przygotowane zgodnie z zasadami opracowania tego typu rozprawy i zawierają podstawowe informacje o założeniach badawczych, materiałach i metodach, wynikach oraz wnioskach.

Bibliografia. Na wykaz literatury składa się 128 pozycji trafnie wyselekcjonowanego piśmiennictwa, stanowiącego aktualne i szerokie naukowe zaplecze prezentowanych i dyskutowanych przez Doktorantkę wyników badań.

3. Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Angeliki Klimek dotyczy bardzo istotnego zagadnienia, dotyczącego wpływu pola elektromagnetycznego o niskiej częstotliwości na funkcjonowanie organizmów zwierzęcych. Prace oryginalne stanowiące podstawę rozprawy stoją na wysokim poziomie merytorycznym, a opublikowane w nich wyniki i wyciągnięte wnioski stanowią istotny i nowatorski wkład w lepsze zrozumienie mechanizmów i skutków oddziaływania ETM na organizmy. Przedstawione w niniejszej recenzji uwagi mają w znacznej mierze charakter edytorski i nie wpływają na mój ostateczny,

bardzo pozytywny odbiór i ocenę całości przedstawionej rozprawy doktorskiej. W związku z powyższym stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Angeliki Klimek spełnia warunki określone w Art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Angeliki Klimek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie zwracając uwagę na bardzo dobre przygotowanie merytoryczne, znakomity warsztat naukowy Pani Magister, a także nowatorstwo uzyskanych przez nią wyników, znacznie poszerzających wiedzę w zakresie wpływu pola elektromagnetycznego o na funkcjonowanie układu wewnątrzwydzielniczego i ośrodkowego układu nerwowego, niosących ze sobą potencjalne możliwości aplikacyjne, wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Łączę wyrazy szacunku,