

Łódź, dnia 12.11.2024 r

dr hab. Renata Bocian
Katedra Neurobiologii
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Siejki

pt.: Długoterminowe zmiany reakcji stresowych u szczura jako efekt ekspozycji na pole elektromagnetyczne niskiej częstotliwości (50 Hz)

Podstawą opracowania recenzji jest, podjęta w dniu 20 września 2024 r., uchwała Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o powołaniu na recenzenta rozprawy doktorskiej autorstwa mgr Agnieszki Siejki.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska przygotowana została, w formie monografii, pod kierunkiem prof. dr hab. Justyny Rogalskiej oraz dr Hanny Kletkiewicz pełniącej funkcję promotora pomocniczego. Opisane w pracy badania przeprowadzono w ramach projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (OPUS nr 2017/25/B/NZ7/00638).

Ocena merytoryczna pracy

Tematyka pracy dotyczy zagadnień związanych z wpływem pola elektromagnetycznego (EMF) na funkcjonowanie organizmów żywych. Naturalne EMF reguluje szereg procesów fizjologicznych zachodzących w organizmach, pełniąc kluczową rolę w utrzymaniu życia na Ziemi. Niestety ciągły postęp technologiczny nieuchronnie prowadzi do wzrostu narażenia na działanie pola elektromagnetycznego o niskiej częstotliwości (ELF-EMF), co może niekorzystnie wpływać na funkcjonowanie organizmów żywych. Coraz liczniejsze doniesienia wskazują, że ELF-EMF

aktywuje współdziałające ze sobą szlaki neuronalne, molekularne i neurochemiczne w tym oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową (HPA) oraz układ sympatyczno-nadnerczowy (SAM). Obydwa wymienione układy odgrywają kluczową rolę w odpowiedzi behawioralnej i fizjologicznej organizmu na stres. Podczas gdy istnieje już stosunkowo obszerna literatura na temat oddziaływania ELF-EMF na funkcjonowanie osi HPA, wpływ pola elektromagnetycznego na układ SAM jest nadal słabo zbadany.

Na podstawie dostępnych danych literaturowych można przypuszczać, że słabe pole elektromagnetyczne o niskiej indukcji może aktywować szlaki komórkowe, które wspierają mechanizmy adaptacyjne, pojawiające się w odpowiedzi na kolejne sytuacje stresowe. Natomiast silniejsze pole magnetyczne może zakłócać procesy związane z przywracaniem homeostazy wewnętrznej, co sprzyja rozwojowi zaburzeń neurologicznych, takich jak stany lękowe, zaburzenia nastroju, problemy z pamięcią oraz bezsenność. W związku z tymi doniesieniami, **badania nad wpływem ELF-EMF na ośrodkowy układ nerwowy oraz jego związek z zaburzeniami behawioralnymi i poznawczymi stanowią obecnie przedmiot intensywnych badań. W ten nurt wpisują się badania stanowiące podstawę recenzowanej rozprawy doktorskiej.**

Po ciekawym i starannie przemyślanym wstępie, zawierającym niezbędne informacje na temat wpływu ELF-EMF na organizmy żywe, Doktorantka uzasadniła celowości planowanych badań. Celem opisanych badań było: 1/ ustalenie, czy zmiany wywołane ekspozycją na ELF-EMF (50 Hz) są trwałe i utrzymują się po zakończeniu działania pola, czy też mają charakter przejściowy i stopniowo zanikają; 2/ sprawdzenie czy kierunek i nasilenie obserwowanych zmian zależą od wartości pola elektromagnetycznego i dobowego czasu ekspozycji; 3/ ustalenie czy zmiana aktywności układu SAM po okresowej ekspozycji na ELF-EMF może determinować reakcję organizmu na kolejne czynniki stresogenne.

Uzyskanie odpowiedzi na postawione przez Doktorantkę pytania było możliwe dzięki właściwie zaplanowanym doświadczeniom przeprowadzonym na szczurach Wistar-Crl (Han), które podzielone zostały na sześć grup doświadczalnych. Ze względu na szerokie spektrum zmiennych zastosowanych w badaniach (tj. różna wartość indukcji pola magnetycznego, odmienny czas ekspozycji oraz rodzaj prowadzonych badań – badania biochemiczne lub behawioralne) uważam, że dużym ułatwieniem dla czytelnika byłoby zestawienie tabelaryczne grup doświadczalnych, uwzględniające wszystkie zmienne oraz liczebność zwierząt.

Ocena wpływu ELF-EMF o różnej wartości indukcji magnetycznej oraz różnym czasie trwania ekspozycji dokonana została na podstawie analizy markerów aktywności układu współczulno-

nadnerczowego (poziomu noradrenaliny i adrenaliny) w osoczu, korze nadnerczy oraz wybranych strukturach mózgowia (miejscu sinawym i podwzgórze). Zarówno dobór metod eksperymentalnych, jak i narzędzi analitycznych był właściwy i umożliwił Doktorantce uzyskanie wiarygodnych wyników.

Doktorantka opisała uzyskane wyniki aż na 131 stronach. W trzech podrozdziałach omówione zostały dane dotyczące: 1/ wpływu pola elektromagnetycznego na poziom analizowanych markerów aktywności układu współczulno-nadnerczowego; 2/ analizy porównawczej poziomu noradrenaliny oraz adrenaliny przed i po poddaniu zwierząt testowi otwartego pola (dodatkowy czynnik stresogenny); 3/ wpływu ELF-EMF na zachowanie zwierząt przebywających w otwartym polu. **Biorąc pod uwagę dużą liczbę danych zamieszczonych w rozdziale „Wyniki”, należy docenić fakt, że zostały one omówione według bardzo starannie przemyślanego schematu, co w znaczącym stopniu ułatwiło ich analizę.** Mimo, że uzyskane wyniki nie budzą większych wątpliwości, poprosiłabym Doktorantkę o odpowiedź na następujące pytania:

1/ Co zdecydowało o wyborze konkretnych markerów aktywności układu SAM? Czy inne markery były brane pod uwagę?

2/ W jaki sposób można wytłumaczyć, nieistotny statystycznie ale bardzo wyraźny, spadek poziomu MHPG w miejscu sinawym po dwóch miesiącach u zwierząt z grupy kontrolnej – K/OF (Ryc. 19, str. 70), a także spadek poziomu NA w podwzgórze po trzech miesiącach również w grupie kontrolnej – K/OF (Ryc. 30, str. 88);

3/ W podrozdziale 3.3., który dotyczy wpływu ekspozycji ELF-EMF na zachowanie zwierząt w teście otwartego pola, zamieszczona została rycina ilustrująca wpływ pola elektromagnetycznego na zmiany aktywności ruchowej (str. 178). Skoro zamiarem Doktorantki było przedstawienie zmian w ujęciu procentowym (świadczy o tym zapis „Analiza GLM wykazała, że na procent czasu spędzonego w ruchu w teście otwartego pola...”) czy wartości prezentowane na wykresach, podobnie jak na Ryc. 59-63, nie powinny być wyrażane w procentach?

Opisane w pracy wyniki badań wskazują, że zmiany w aktywności układu współczulno-nadnerczowego zależą od intensywności pola elektromagnetycznego i wpływają na endokrynologiczną oraz behawioralną odpowiedź organizmu pojawiającą się w odpowiedzi na kolejne sytuacje stresowe. Wysokie wartości ELF-EMF (7 mT) „uwrażliwiają” organizm na przyszłe stresory, podczas gdy niskie wartości (1 mT) mogą inicjować reakcję adaptacyjną, która pojawia się w odpowiedzi na kolejne zdarzenia stresogenne. **Tym samym Doktorantka potwierdziła wcześniejsze doniesienia sugerujące, że wysokie wartości ELF-EMF mogą sprzyjać rozwojowi zaburzeń układu nerwowego, natomiast niskie wartości posiadają pewien potencjał terapeutyczny.**

W rozdziale „Dyskusja” Autorka podsumowuje uzyskane wyniki i zestawia je z dostępnymi danymi literaturowymi. **Sposób prowadzenia dyskusji świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym i wysokiej dojrzałości naukowej Doktorantki.** Pani mgr Agnieszka Siejka poprawnie zaadresowała wszystkie uzyskane wyniki badań biochemicznych i behawioralnych oraz omówiła je krytycznie, w kontekście dobrze dobranej i aktualnej literatury przedmiotu. Ponieważ prezentowane w pracy wyniki dotyczą badań prowadzonych na samcach, chciałabym zapytać: *Czy Doktorantce znane są badania sugerujące, że odpowiedź organizmu na ELF-EMF zależy nie tylko od wartości indukcji magnetycznej czy czasu ekspozycji, ale również od płci. Ze względu na różnice w gospodarce hormonalnej między płciami można spodziewać się, że takie zależności mogłyby występować.*

Podsumowując ocenę merytoryczną pracy, stwierdzam, że Doktorantka wykazała się umiejętnością uzasadnienia potrzeby prowadzonych badań, doboru metod doświadczalnych i narzędzi analitycznych, a także umiejętnością rzetelnej interpretacji uzyskanych wyników. Moim zdaniem Doktorantka osiągnęła założony cel, a wyniki zaprezentowała w sposób zgodny z powszechnie przyjętymi standardami naukowymi.

Ocena formalna pracy

Treść rozprawy doktorskiej odpowiada tytułowi pracy oraz sformułowanym celom badawczym. Dobór piśmiennictwa jest poprawny, a zamieszczony w pracy wykaz bibliografii nie budzi większych zastrzeżeń. Precyzyjnie wyselekcjonowane materiały źródłowe pozwoliły na przygotowanie ciekawego wstępu oraz umożliwiły syntetyczne i prawidłowe omówienie uzyskanych wyników.

W spisie literatury zamieszczonych zostało 236 pozycji, z czego 4 to akty prawne. **Godnym odnotowania jest fakt, że blisko 40% pozycji literaturowych (93 prace) to artykuły opublikowane w ostatniej dekadzie.** Niestety Autorce pracy nie udało się uniknąć drobnych „potknięć” w cytowaniu materiałów źródłowych. Znajdująca się w spisie literatury pozycja autorstwa He i in. (2011) nie ma swojego odpowiednika w tekście. Z kolei dwie zacytowane w tekście prace nie zostały uwzględnione w wykazie literatury (Miranda i in., 2019; Ressler i Nemeroff, 2000). Mam też drobną uwagę dotyczącą sposobu cytowania niektórych pozycji literaturowych. Zwyczajowo przy cytowaniach podaje się jedynie nazwiska autorów prac. W zasadzie Doktorantka poprawnie cytowała materiały źródłowe, niemniej jednak w niektórych miejscach przed nazwiskami autorów zamieszczone zostały również inicjały imion (np. H. Lai i Levitt, 2024; L. Zhon i in., 2016; E. Calabeses, 2025; M.-O. Mattson i Simkó, 2012). Pojawiły się też drobne nieścisłości w cytowaniach, z których wymienię tylko nieliczne. Poprawne cytowanie pozycji *Alsaed i in., 2014b* (str. 210) to prawdopodobnie *Alsaed i in., 2014a*.

Ponieważ Doktorantka cytuje tylko jeden artykuł wspomnianych autorów uważam, że w tym przypadku, można było zrezygnować z dodatkowych oznaczeń. Nie do końca poprawnie zacytowane zostały także artykuły autorstwa Andela i wsp. z 2010 roku. W wykazie literatury zamieszczone zostały dwa artykuły wymienionych wyżej autorów (*Andela i in., 2010a* oraz *Andela in., 2010b*), zatem nie do końca wiadomo, na którą prace powoływała się Doktorantka na str. 31 i 34.

Praca napisana została bardzo dobrze pod względem językowym, co stanowi jej niewątpliwy atut. Mimo że nie ma w niej błędów stylistycznych ani językowych niezgrabności, Autorce nie udało się uniknąć drobnych błędów interpunkcyjnych, literówek oraz niedociągnięć edytorskich. Osobiście, podczas czytania wstępu, trochę „przeszkadzały” mi dosyć liczne akapity składające się z jednego lub dwóch zdań. W rozdziale „Wyniki” w tytułach i podtytułach niepotrzebnie umieszczone zostały kropki na końcu zdań. Jeśli chodzi o błędy edytorskie wymienię tylko kilka z nich: str. 14 ostatni akapit zamiast „pół” powinno być „pól”; str. 39 zamiast „*Hormeza może również być również postrzegana...*” powinno być „*Hormeza może również być postrzegana...*”; str. 88 w pierwszym zdaniu pod Ryc. 30 zamiast „LC” powinno być „HPT”; str. 110 zamiast „*...3 miesiące po jej zakończeniu...*” powinno być „*...3 miesiące po jej zakończeniu...*”; str. 183 w tytule podrozdziału błędnie został podany numer tabeli zamiast „*Tab. 16B*” powinno być „*Tab. 28B*”; str. 198 i 211 użyty został inny typ czcionki w przypadku tekstu „*kwasu 5-hydroksyindolooctowego*” i „*Cirulli i Alleva, 2009*”.

Na koniec chciałabym odnieść się do szaty graficznej pracy. **Treść i wyniki zawarte w rozprawie doskorskiej zostały bogato zilustrowane, co znacząco ułatwia czytelnikowi odbiór przekazywanych przez Doktorantkę informacji.** W pracy zamieszczonych zostało 30 tabel i aż 75 rycin, z czego 61 ilustruje wyniki. Niestety, również i w tym obszarze Autorce pracy nie udało się uniknąć pewnych błędów edytorskich. W Ryc. 2 nieprawidłowo zostały opisane wpływy pola elektromagnetycznego na organizm – w miejscu „*wpływ negatywny*” powinno być „*wpływ pozytywny*”, a tam gdzie „*wpływ pozytywny*” powinien widnieć zapis „*wpływ negatywny*”. Z kolei, Ryc. 5, 10 i 13 nie mają swojego odpowiednika w tekście, a Ryc. 12 została błędnie zacytowana jako Ryc. 11. Dodatkowo Ryc. 47, w moim przekonaniu, posiada niepoprawny opis osi x.

Chciałabym podkreślić, że przedstawione powyżej uwagi, dotyczące w zasadzie jedynie strony edytorskiej recenzowanej pracy, nie mają wpływu na jej bardzo wysoką ocenę merytoryczną.

Podsumowanie i ostateczne wnioski

Zastosowanie właściwych metod doświadczalnych oraz prawidłowe wnioskowanie pozwoliło mgr Agnieszce Siejkę uzyskać nowatorskie wyniki, które z pewnością przyczynią się do wyjaśnienia

podstawowych mechanizmów leżących u podstaw dwukierunkowego działania pola elektromagnetycznego o niskich częstotliwościach (50 Hz). Uzyskane przez Doktorantkę wyniki poszerzą wiedzę na temat możliwości terapeutycznego wykorzystania pola elektromagnetycznego i z pewnością przyczynią się do prawidłowej oceny ryzyka związanego z ekspozycją na EMF o niskich częstotliwościach. **Stwierdzam zatem, że w mojej ocenie rozprawa doktorska Pani mgr Agnieszki Siejki spełnia wszelkie wymogi określone w art. 13.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2017.1789 ze zm.) oraz art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. - Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.).** Z związku z powyższym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika o dopuszczenie mgr Agnieszki Siejki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku

UNIWERSYTET ŁÓDZKI
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
KATEDRA NEUROBIOLOGII
Renata Bocian
dr hab. Renata Bocian