

prof. dr hab. Anita Franczak
Katedra Anatomii i Fizjologii Zwierząt
Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Ocena rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Siejki pt. "Długoterminowe zmiany reakcji stresowych u szczura jako efekt ekspozycji na pole elektromagnetyczne niskiej częstotliwości (50 Hz)"

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Agnieszki Siejki została wykonana na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, pod kierunkiem prof. dr hab. Justyny Rogalskiej. Przeprowadzone badania zrealizowano w ramach grantu Opus pt. "Nowe spojrzenie na wpływ pola elektromagnetycznego niskiej częstotliwości (50 Hz) na reakcje stresowe i plastyczność mózgową – efekt hormezy" (OPUS nr 2017/25/B/NZ7/00638), sfinansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Głównym celem rozprawy było zbadanie czy zmiany w organizmie indukowane przez pole elektromagnetyczne o ekstremalnie niskiej częstotliwości (ELF-EMF) są trwałe i utrzymują się po zaprzestaniu działania bodźca, czy jednak są one przejściowe i ustępują z upływem czasu, co sugerowałoby istnienie mechanizmów kompensacyjnych lub adaptacyjnych. Słusznie założono, że kierunek i dynamika zmian odpowiedzi organizmu na ekspozycję na ELF-EMF zależą od wartości indukcji magnetycznej i czasu ekspozycji, a oddziaływanie ELF-EMF na organizm może wywoływać efekt hormezy, czyli dwukierunkowej reakcji organizmu, podczas której czynnik oddziałując w dużych dawkach jest szkodliwy, a w małych dawkach działa stymulująco i wywołuje odpowiedź adaptacyjną. Należy stwierdzić, że w świetle ogromnego wzrostu ilości źródeł pola elektromagnetycznego o ekstremalnie niskiej częstotliwości w ostatnich latach, podjęcie badań mających na celu poznanie i wyjaśnienia skutków oddziaływania ELF-EMF na organizmy żywe jest w pełni uzasadnione.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest samodzielną pracą naukową o charakterze eksperymentalnym i uporządkowanej, dobrze przemyślanej strukturze uwzględniającej wprowadzenie (wstęp), opis materiałów i wykorzystanych metod badawczych, opis wyników, dyskusję wraz z podsumowaniem, wnioski, streszczenie w języku polskimi i języku angielskim oraz spis literatury. Przedstawiona rozprawa doktorska składa się zatem z rozdziałów charakterystycznych dla tego typu prac. Wprowadzenie uwzględnia interesujące dane dotyczące charakterystyki pola elektromagnetycznego, jego źródeł i

potencjalnego wpływu na organizm, rozważania dotyczące pola elektromagnetycznego jako czynnika stresowego i wybranych, poznanych do tej pory konsekwencji ekspozycji na pole elektromagnetyczne w kontekście zaburzeń behawioru i rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, ale także zawiera rozważania dotyczące wzrastającej liczby badań wskazujących na stymulujący wpływ pola elektromagnetycznego o ekstremalnie niskiej częstotliwości na plastyczność mózgu. Biorąc pod uwagę powyższe dane, należy ponownie stwierdzić i podkreślić, że podjęty w ramach rozprawy doktorskiej temat jest bardzo interesujący. Zwracam się jednak z prośbą do Doktorantki o bardziej wnikliwe odniesienie się do danych dotyczących potencjalnie pozytywnego, głównie neuroprotektoryjnego, wpływu ELF-EMF. Od czego może zależeć takie oddziaływanie ELF-EMF? Czy to neuroprotektoryjne działanie ELF-EMF może być uzależnione od wieku organizmu? Jakie czynniki mogą zaburzać ten potencjalnie pozytywny efekt? Czy należy rozważyć wyłącznie czas ekspozycji i wartość indukcji magnetycznej pola elektromagnetycznego? Proszę o odniesienie się także do innych znanych pozytywnych wpływów ELF-EMF na organizm.

Do części rozprawy doktorskiej stanowiącej wprowadzenie nie mam uwag z wyjątkiem kilku dotyczących stosowanych przez Doktorantkę sformułowań, np. „w ciele człowieka” (str. 15) – powinno być w organizmie człowieka, „przysadka mózgowa” – powinno być przysadka (str. 25), „wolne rodniki niszczą komórki poprzez uszkodzenie dużych cząsteczek takich jak DNA, białka i błony komórkowe, co może indukować rozwój procesów rakotwórczych” – trudno zgodzić się ze stwierdzeniem, że błony komórkowe to duże „cząsteczki”, określenie pola elektromagnetycznego o częstotliwości 1-300 Hz jako pole elektromagnetyczne o niskiej częstotliwości – powinno być: ekstremalnie niskiej częstotliwości (np. str. 16, 35 i inne liczne). Nie są to uwagi merytoryczne, lecz są istotne dla tego typu prac.

W mojej opinii na szczególną uwagę (i docenienie) zasługuje podrozdział dotyczący uzasadnienia podjętych badań. Doktorantka, między innymi, wyjaśnia na czym polega problem z dogłębnym poznaniem i zrozumieniem związku między ekspozycją organizmu na pole elektromagnetyczne o ekstremalnie niskiej częstotliwości, a zmianami w układzie nerwowym. Uzasadnia, dlaczego założyła, że wpływ ekspozycji na pole elektromagnetyczne o ekstremalnie niskiej częstotliwości nie musi być jednoznacznie negatywny, a potencjalne konsekwencje ekspozycji na badany czynnik zależą od wartości indukcji magnetycznej (tu 1 i 7 mT, 50 Hz) i dobowego czasu ekspozycji.

Wstęp pracy („wprowadzenie”) dowodzi, że Doktorantka dobrze opanowała umiejętność dokonywania selekcji oraz analizy wiedzy z zakresu podjętej tematyki badań. Stwierdzam także, że Doktorantka prawidłowo i klarownie uzasadniła cele podjętych badań oraz wybrała właściwe metody badawcze, które pozwoliły na zweryfikowanie postawionych hipotez zakładających, że: 1. okresowa ekspozycja (przez 7 dni) na pole elektromagnetyczne o częstotliwości 50 Hz inicjuje zmiany w aktywności układu współczulno-nadnerczowego (SAM), których kierunek i nasilenie zależą od natężenia pola elektromagnetycznego i dobowego czasu ekspozycji (hipoteza I), 2. efekt działania ELF-EMF może być krótkotrwały, jednak ewentualne utrzymywanie się efektów działania pola jest uzależnione od wartości indukcji magnetycznej i czasu ekspozycji (hipoteza II), 3. okresowa ekspozycja na ELF-EMF zmienia „punkt nastawczy”

(set-point) aktywności układu SAM i zmienia odpowiedź na kolejne czynniki stresogenne, a dynamika tego procesu oraz kierunek zmian zależą od indukcji magnetycznej (hipoteza III). W celu weryfikacji tych hipotez zbadano dynamikę zmian stężenia i metabolizmu noradrenaliny i adrenaliny, określono czas utrzymywania się tych zmian po różnym dobowym okresie (1 h i 8 h) ekspozycji zwierząt na pole elektromagnetyczne o ekstremalnie niskiej częstotliwości (50 Hz) i jego różnym natężeniu (1 mT i 7 mT). Określono również wpływ ELF-EMF na aktywność układu współczulno-nadnerczowego, indukowaną przez następny czynnik stresowy (test otwartego pola). W związku z tym należy rozważyć, czy hipoteza nr III rzeczywiście powinna zakładać, że „okresowa ekspozycja na ELF-EMF zmienia „punkt nastawczy” (set-point) aktywności układu współczulno-nadnerczowego i zmienia odpowiedź na kolejne czynniki stresogenne, a dynamika tego procesu oraz kierunek zmian zależą od indukcji magnetycznej”. Nie badano kolejnych, tzn. licznych innych czynników stresogennych. Czy może rzeczywiście zakładano, że okresowa ekspozycja na ELF-EMF zmienia odpowiedź na kolejne (dowolne, na przykład liczne) czynniki stresogenne? Proszę Doktorantkę o odniesienie się do tej uwagi. Takiego typu wyjaśnienia w pracy zabrakło. Przekonanie to potęguje fakt, że Doktorantka wyjaśnia wprawdzie, że przy założeniu, że okresowa (tygodniowa) ekspozycja na ELF-EMF zmienia „punkt nastawczy” (set-point) aktywności układu współczulno-nadnerczowego, to można było także przewidzieć, że będzie zmieniać hormonalną i behawioralną odpowiedź na kolejne czynniki stresogenne, a dynamika tego procesu oraz kierunek zmian będą zależały od siły tego pola (indukcji magnetycznej) i dobowego czasu ekspozycji. Uwzględniając dane dotyczące potencjalnego narażenia organizmów żywych na obecnie powszechnie występujące w środowisku pole elektromagnetyczne o ekstremalnie niskiej częstotliwości słusznie zaplanowano zbadanie wpływu ekspozycji na ELF-EMF o natężeniu 1 mT i 7 mT w różnym dobowym czasie ekspozycji (1 h i 8 h) na aktywność układu sympatyczno-nadnerczowego i zachowanie zwierząt indukowane przez kolejny czynnik stresowy. Na stronie 41. Doktorantka odsyła czytelnika do ryc. 4, ale ta rycina przedstawia efekt hormezy i nie odnosi się do powyższego zagadnienia. Zabrakło więc wyjaśnienia/uzasadnienia dotyczącego wyboru typu kolejnego badanego czynnika stresowego. Proszę o uzupełnienie tej informacji.

Badania przeprowadzono na szczurach Wistar-Crl:WI (Han) pochodzących z hodowli prowadzonej w Zwierzętarni Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK. Na ich przeprowadzenie uzyskano zgody Lokalnej Komisji Etycznej w Bydgoszczy nr 5/2015 z dnia 26.02.2015 roku oraz nr 52/2018 z dnia 14.12.2018 roku. Rozdział dotyczący wykorzystanych materiałów i zastosowanych metod badawczych zawiera wyczerpującą informację o zwierzętach, systemie pozwalającym na ich ekspozycję na pole elektromagnetyczne o ekstremalnie niskiej częstotliwości oraz opis grup eksperymentalnych. Na docenienie zasługuje przedstawiony schemat graficzny procedur doświadczalnych, który (choć trudny do rozszyfrowania z powodu niewielkich rozmiarów czcionki) istotnie porządkuje wiedzę dotyczącą schematu postępowania. Doktorantka nie uniknęła jednak w tej części pracy pewnego istotnego niedopowiedzenia deklarując, że „szczury z grup kontrolnych były poddawane identycznym procedurom jak odpowiadające im zwierzęta z grup

eksperymentalnych". Należy zapewne rozumieć, że cyt. „szczury z grup kontrolnych były poddawane identycznym procedurom jak odpowiadające im zwierzęta z grup eksperymentalnych” i nie były ekspozycje na ELF-EMF. Stwierdzam, że Doktorantka prawidłowo uzasadniła celowość podjętych badań oraz wybrała właściwe metody badawcze. W rozdziale Materiał i Metody Doktorantka skrupulatnie przedstawiła wykorzystywane metody badawcze i dokonała precyzyjnego opisu wykonanych czynności laboratoryjnych, przeprowadzonych analiz biochemicznych i analiz statystycznych. Dodatkowo, przedstawiła schematy, które obrazują przeprowadzone procedury.

Na podkreślenie zasługuje klarowny i rzetelny opis uzyskanych wyników. Rozdział Dyskusja, jest napisany w logiczny sposób, umożliwiając czytelnikowi ustosunkowanie się do uzyskanych wyników. Układ dyskusji, która składa się z podrozdziałów, znacznie ułatwia śledzenie analizowanych zagadnień. Uwzględnione są tutaj interesujące rozważania dotyczące między innymi nieznacznych zmian w aktywności układu sympatyczno-nadnerczowego w wyniku ekspozycji zwierząt na ELF-EMF o wartości indukcji magnetycznej wynoszącej 1 mT, co sugeruje że jest to stresogenna, ale względnie bezpieczna wartość natężenia ELF-EMF (ponieważ stosunkowo słaba i przejściowa) oraz zdecydowanie większego wpływu ELF-EMF o wartości indukcji magnetycznej wynoszącej 7 mT – obserwowano m.in. krótkotrwały wzrost stężenia noradrenaliny w miejscu sinawym, podwzgórze i w osoczu krwi. Można zatem stwierdzić, że wpływ ELF-EMF o wartości indukcji magnetycznej wynoszącej 7 mT jest tak silny, że już 1-godzinna ekspozycja jest wystarczająca do wywołania zmian w stężeniu noradrenaliny w miejscu sinawym i podwzgórze. Inaczej, co podkreśla Doktorantka, kształtuje się odpowiedź w nadnerczach - stwierdzono dwukrotnie wyższy poziom noradrenaliny, ale dopiero po wydłużeniu dobowego czasu ekspozycji na ELF-EMF do 8 h. Interesujące jest jaki może być (i z czego może wynikać) mechanizm obserwowanych różnic, dotyczących wrażliwości i odpowiedzi badanych struktur na ELF-EMF. Proszę o odniesienie się do tej uwagi.

Diskusja pracy jest inspirująca, wielowątkowa i ciekawa z powodu trafnych spostrzeżeń i licznych odniesień do obszernego wykazu wykorzystanej literatury. Wysoko oceniam interpretację wyników własnych w tej części pracy oraz umiejętność wyeksponowania najważniejszych wniosków, zarówno w toku dyskusji, jak i po jej zakończeniu. Niemniej jednak proszę o odniesienie się do wniosków nr 5 i nr 7. Stwierdzono w nich, że „aktywacja układów stresu wywołana ekspozycją na ELF-EMF nie była wystarczająco silna, aby zmienić zachowanie zwierząt w odpowiedzi na kolejny czynnik stresowy. Niewielkie zmiany behawioru u zwierząt ekspozycje na ELF-EMF 7 mT sugerują umiarkowany poziom lęku w tej grupie”. Udokumentowano, że ELF-EMF o niskiej wartości indukcji magnetycznej (1 mT) przesuwa aktywność układu SAM w kierunku adaptacji do warunków stresogennych. Czy jednak jednocześnie rzeczywiście uwzględniając niewielkie zmiany behawioru u zwierząt ekspozycje na ELF-EMF 7 mT (wniosek nr 7) można stwierdzić, że „wysoka wartość indukcji magnetycznej ELF-EMF (7 mT) uwrażliwia organizm na kolejne zdarzenia stresowe”? W mojej opinii wniosek nr 9 „ELF-EMF o wysokiej indukcji magnetycznej (7 mT) może nasilać podatność organizmu na kolejne czynniki stresogenne i tym samym zwiększać ryzyko wystąpienia chorób układu nerwowego” jest powtórzeniem stwierdzeń zawartych we

wniosku nr 5 „ELF-EMF o niskiej wartości indukcji magnetycznej (1 mT) przesuwa aktywność układu SAM w kierunku adaptacji do warunków stresogennych, natomiast wysoka wartość indukcji magnetycznej ELF-EMF (7 mT) uwrażliwia organizm na kolejne zdarzenia stresowe”. Warto rozważyć sformułowanie trzech-czterech wniosków, odnoszących się ściśle do sformułowanych hipotez.

Podsumowując, należy podkreślić, że przeprowadzenie eksperymentów i opracowanie uzyskanych wyników wymagały od Doktorantki ogromnego nakładu rzetelnej pracy. Przedłożona do oceny rozprawa doktorska jest wielowątkowa, pozwala na postawienie kolejnych pytań - proszę o taką refleksję.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. "Długoterminowe zmiany reakcji stresowych u szczura jako efekt ekspozycji na pole elektromagnetyczne niskiej częstotliwości (50 Hz)" autorstwa pani mgr Agnieszki Siejki spełnia wszystkie wymagania określone w Ustawie 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.), stawiane rozprawom doktorskim.


Anita Franczak

Olsztyn, dnia 23 października 2024 r.