

dr hab. Urszula Guzik, prof. UŚ  
Wydział Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Śląski w Katowicach

Katowice; 15.06.2023

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr. ROBERTA SORNATA

**p.t. „Opracowanie i walidacja alternatywnej metody badania teratogenności z wykorzystaniem *Hydra attenuata* i *Brachydanio rerio*”**

Oceniana rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Biotechnologii Środowiskowej na Wydziale Inżynierii Środowiska i Energetyki Politechniki Śląskiej w Gliwicach pod kierunkiem promotora dr hab. inż. Joanny Kalki, prof. PŚ. Praca finansowana była ze środków MNiSW w ramach „II edycji Doktoratu wdrożeniowego” i realizowana we współpracy z Siecią Badawczą Łukasiewicz – Instytut Przemysłu Organicznego Oddział w Pszczynie.

### Podstawa wykonania recenzji

Recenzję wykonałam w oparciu o uchwałę Rady Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Politechniki Śląskiej w Gliwicach z dnia 20 kwietnia 2023 roku oraz dostarczonego egzemplarza rozprawy doktorskiej.

### Znaczenie i aktualność zagadnień zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej

Rozwój przemysłu i rolnictwa powoduje zwiększenie ilości substancji szkodliwych dostających się do wody, gleby i powietrza, a wprowadzanie na rynek nowych związków chemicznych wymaga ich testowania pod kątem bezpieczeństwa dla ludzi i środowiska. Pociąga to za sobą konieczność rozwoju badań toksykologicznych i ekotoksykologicznych, tak istotnych w naukach środowiskowych, w tym inżynierii środowiska. Jednak wykorzystywanie w tych badaniach zwierząt laboratoryjnych, zwłaszcza kręgowców, budzi coraz większy sprzeciw społeczny. Stąd też istnieje konieczność opracowywania alternatywnych metod toksykologicznych, które z jednej strony pozwolą ograniczyć liczbę zwierząt laboratoryjnych, a z drugiej zapewnią rzetelną ocenę



substancji chemicznych pod kątem ich bezpieczeństwa. Badania przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej mgr. Roberta Sornata stanowią odpowiedź na to zapotrzebowanie.

### Ocena formalna pracy doktorskiej

Praca doktorska Pana mgr. Roberta Sornata zatytułowana „Opracowanie i walidacja alternatywnej metody badania teratogenności z wykorzystaniem *Hydra attenuata* i *Brachydanio rerio*” została zrealizowana w formie klasycznej monografii. Pracę rozpoczynają streszczenia pracy w języku polskim oraz angielskim. Następnie, po krótkim wprowadzeniu, na kolejnych 44 stronach przedstawiono przegląd literatury który porusza wszystkie niezbędne informacje dotyczące teratologii, poczynając od historii rozwoju badań toksyczności rozwojowej, poprzez opis czynników teratogennych w środowisku człowieka i regulacji prawnych związanych z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych w badaniach toksykologicznych, a kończąc na charakterystyce potencjalnych modeli badawczych. Przygotowanie tej części rozprawy wymagało bardzo dużego nakładu pracy w wybranie najbardziej istotnych informacji dotyczących prezentowanego tematu, co było niezmiernie trudne, mając na względzie obszerność zagadnienia.

Cel pracy, hipotezy oraz zadania badawcze Autor przedstawił bardzo czytelnie. Celem pracy było opracowanie alternatywnej metody badawczej do badania toksyczności rozwoju przedporodowego na szczurach i królikach. Aby go zrealizować przeprowadzono szereg testów na wybranych dwóch gatunkach zwierząt: *Hydra attenuata* oraz *Brachydanio rerio*, sprawdzających odpowiedź tych zwierząt na narażenie stosowanymi w środkach ochrony roślin substancjami czynnymi. Następnie przeprowadzono ewaluację obserwowanych zmian i opracowano ocenę punktową pozwalającą na klasyfikację poszczególnych związków. Jest to więc spójny koncepcyjnie plan działania.

Sekcję Metody zawarto na 15 stronach. Opis jest szczegółowy i pozwala na pełne zaznajomienie się z metodyką badawczą zastosowaną do realizacji eksperymentów.

Przedstawienie wyników badań oraz ich dyskusja obejmują kolejne 52 strony tekstu wraz z rysunkami i tabelami. W mojej ocenie Doktorant niepotrzebnie wydzielił dwa odrębne rozdziały: Analiza wyników oraz Dyskusja wyników, zamiast połączyć je w jeden rozdział Wyniki i dyskusja, gdyż wielokrotnie, podczas prezentacji wyników, przeprowadzał jednocześnie ich analizę i wyciągał wnioski. Należy zwrócić również uwagę, że w części metodycznej Doktorant opisał



stosowane testy statystyczne, ale nie zamieścił wyników tych testów w sekcji Analiza wyników. Nie zmienia to oczywiście faktu, że uzyskane wyniki zostały zaprezentowane ze szczególną starannością.

Doktorant w swojej rozprawie doktorskiej nie tylko zaprezentował wyniki, ale co najważniejsze, przedyskutował ich znaczenie w odniesieniu do literatury polskiej i światowej. Zdaniem recenzentki, tak powinna wyglądać dojrzała dyskusja naukowa. Doktorant ma poświadczać umiejętność prowadzenia badań i interpretacji uzyskanych wyników, czyli kluczowym elementem każdej pracy doktorskiej ma być rozbudowana i dojrzała dyskusja wyników. Pan mgr Robert Sornat dobrze wywiązał się z tego zadania.

Wnioski wynikające z uzyskanych wyników zawarto na dwóch stronach, trafnie wybierając najbardziej interesujące dla środowiska naukowego osiągnięcia będące efektem realizacji doktoratu. Następnie zamieszczono listę 350 źródeł literaturowych oraz załączniki zawierające surowe dane dla wartości  $LC_{50}$  i  $EC_{50}$  oraz  $TI(LC_{50})$  i  $TI(EC_{50})$  uzyskane w testach na hydrach oraz wyniki obserwacji rozwoju embrionów *Brachydanio rerio*. Całość pracy doktorskiej zawarto na 210 stronach A4.

Praca napisana jest ze znaczną liczbą literówek, niezręczności stylistycznych oraz błędów interpunkcyjnych, ale poprawnym stylistycznie językiem.

Doktorat wdrożeniowy powinien zawierać zarówno elementy nowości naukowej, jak również rozwiązywać problem technologiczny, z którym zmagają się firmy, w której doktorant jest zatrudniony. Pod tym względem praca Pana mgr. Roberta Sornata całkowicie spełnia stawiane jej wymagania. Doktorant zrealizował przemyślane i zaplanowane badania oceny teratogenności związków chemicznych stosowanych w środkach ochrony roślin z wykorzystaniem organizmów *Hydra attenuata* i embrionów *Brachydanio rerio*, celem opracowania metody alternatywnej do badania teratogenności na szczurach i królikach. Przeprowadził szereg logicznie wynikających z siebie eksperymentów, stosując liczne analizy łączące wiedzę z zakresu toksykologii, chemii analitycznej, anatomii zwierząt oraz embriologii. Ponadto wykazał się umiejętnością poprawnej analizy wyników i wyciągania wniosków. Najważniejszymi osiągnięciami niniejszego doktoratu są:

- wykluczenie testu na regenerację z wykorzystaniem *Hydra attenuata* jako narzędzia diagnostycznego w przesiewowym badaniu teratogenności związków chemicznych



stanowiących potencjalne zanieczyszczenia środowiska ze względu na niską czułość i dokładność testu;

- wykazanie, że występowanie wad rozwojowych u embrionów *Brachydanio rerio* jest najlepszym parametrem różnicującym związki teratogenne od nieteratogennych;
- opracowanie uniwersalnego testu przesiewowego z zastosowaniem dwóch modeli badawczych, opartego na ocenie punktowej wpływu związków chemicznych na teratogenność.

Analizując niniejszą pracę doktorską pod kątem aktualności podjętych badań można z całą pewnością stwierdzić, że Autor z sukcesem odnalazł swoją niszę badawczą, a realizowane przez Niego badania będą interesujące dla szeregu naukowców zainteresowanych opracowywaniem nowych testów toksykologicznych.

Nie mam istotnych uwag krytycznych do recenzowanej pracy, zaś wymienione poniżej punkty mają formę sugestii i będą stanowić początek dyskusji w trakcie obrony pracy doktorskiej.

1. W opisie substancji teratogennych w środowisku Doktorant skupił się na lekach przeciwpadaczkowych oraz talidomidzie. Czy są to jedyne dotychczas opisane leki powodujące wady wrodzone?
2. Jako jeden z możliwych mechanizmów działania teratogennego talidomidu u człowieka Doktorant podaje rozkład leku przez peroksydazę chrzanową i powstawanie wolnorodnikowych produktów pośrednich oraz reaktywnych form tlenu utleniających DNA. Jak wyjaśnić ten mechanizm, jeżeli peroksydaza chrzanowa nie występuje w organizmie człowieka?
3. Co Doktorant miał na myśli pisząc o korzystnych efektach antagonistycznego działania talidomidu wobec czynnika martwicy nowotworu TNF-alfa w powikłaniach ciężkich chorób związanych z TNF-alfa?
4. Doktorant w rozprawie pisze, że pestycydy „[...] modulują aktywność różnych enzymów, w tym dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, glutationu [...]”. W związku z powyższym proszę o wyjaśnienie, czym jest glutation?
5. W części teoretycznej rozprawy doktorskiej zabrakło informacji o dotychczasowym wykorzystaniu w badaniach toksykologicznych głównych obiektów badań Doktoranta, czyli *Hydra attenuata* i *Brachydanio rerio*. Bardzo proszę o przedstawienie tego wątku.



6. Analizując znaczenie indexu TI dla klasyfikacji związków w rozwoju toksyczności przedporodowej Doktorant podał dwa czynniki, wraz z uzasadnieniem, osłabiające znaczenie tego indexu, a mianowicie różnorodność chemiczną badanych związków oraz budowę anatomiczną hydry, wskazując jednocześnie, że hydra może być dobrym modelem dla wczesnych faz rozwojowych. Jako czynnik nie pozwalający pozytywnie zweryfikować hydry jako modelu badawczego dla wczesnych faz rozwojowych Doktorant podał istnienie wspólnych ewolucyjnie szlaków metabolicznych kierujących procesami rozwoju czy regeneracji. Proszę o rozwinięcie tego tematu.

### **Wniosek końcowy**

Podsumowując, rozprawa doktorska mgr. Roberta Sornata napisana w formie klasycznej monografii przedstawia szeroko zakrojone wyniki badań, które zostały przez Doktoranta przeanalizowane w oparciu o dostępną literaturę naukową. Rozprawa doktorska jest merytorycznie poprawna i potwierdza możliwość praktycznego zastosowania uzyskanych w niej wyników, w szeroko pojętej toksykologii. Moje uwagi nie wpływają negatywnie na ogólną, bardzo dobrą, ocenę pracy. Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr. Roberta Sornata spełnia wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r., poz. 85) i wnoszę o dopuszczenie Pana mgr. Roberta Sornata do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

dr hab. Urszula Guzik, prof. UŚ