

Prof. dr hab. inż. Krzysztof Formicki, prof. zw.  
Katedra Hydrobiologii, Ichtiologii i Biotechnologii Rozrodu  
Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

**Recenzja**  
**rozprawy doktorskiej**  
**pana mgr Konrada Wojnarowskiego**  
**pod tytułem**  
**„Ocena wpływu hormonów płciowych na wybrane parametry**  
**fenotypu oraz ekspresję genu *cyp11b1* potencjalnie związaną z**  
**procesem karcinogenezy u danio przegowanego (*Danio rerio*)”**

Niniejsza opinia spisana została dla Rady Dyscypliny  
Zootechnika i Rybactwo  
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu  
Promotor: dr hab. Ryszard Polechoński, prof. uczelni  
z Instytutu Hodowli Zwierząt  
Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt UPWr  
Promotor pomocniczy: dr n.wet. Małgorzata Bednarska  
z Katedry Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych  
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UPWr

Estrogeny to hormony płciowe do których należą 17- $\beta$ -estradiol, estron i estriol. Aktywność poszczególnych hormonów jest różna i zmienia się w okresie życia organizmu. Rozwój cywilizacji spowodował, że do wód trafia duża ilość środków chemicznych, a wśród nich estrogeny, które są szczególnie trudne do usunięcia w procesie oczyszczania ścieków. Hormony te posiadają wysoką aktywność i mogą oddziaływać na ryby i organizmy wodne w sposób

ciągły. Oddziaływanie to przejawiać się może między innymi poprzez zmiany w kształtowaniu drugorzędowych cech płciowych zwierząt, negatywny wpływ na układ krążenia, układ rozrodczy i immunologiczny. Może również oddziaływać karcinogenicznie.

Celem badań było zbadanie wpływu trzech wymienionych powyżej hormonów na wybrane parametry pigmentacji larw *Danio rerio* oraz na ekspresję genu *cyp11b1*. Ryba ta jest bardzo często wykorzystywana do badań laboratoryjnych. O ile 17- $\beta$ -estradiol i jego oddziaływanie na ryby skupiały uwagę badaczy, to estron i estriol pozostawały w cieniu tamtego najaktywniejszego estrogeny.

Dlatego wybór obiektu i tematu badań wydaje się słuszny, a Doktorant z Promotorem i Promotorem pomocniczym dokonali właściwego wyboru i umiejętnie wpisali się w mający duże znaczenie poznawcze i praktyczne nurt badań. Na tym ogólnym tle umieszczono cele szczegółowe takie jak:

- określenie wpływu różnych stężeń estriolu, 17- $\beta$ -estradiolu i estronu na pigmentację larw danio pręgowanego,
- określenie wpływu różnych stężeń estriolu, 17- $\beta$ -estradiolu i estronu na poziom ekspresji genu *cyp11b*,
- porównanie wpływu różnych stężeń estriolu, 17- $\beta$ -estradiolu i estronu na pigmentację i ekspresję genu *cyp11b1*,
- oraz zbadanie korelacji pomiędzy pigmentacją badanych ryb a ekspresją genu *cyp11b1*.

Rozprawa doktorska Pana mgr Konrada Wojnarowskiego jest spisana na 68 stronach. Rozprawę rozpoczyna strona tytułowa, podziękowania, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis treści oraz wykaz skrótów i pojęć. We wstępie Autor opisuje estrogeny, podział i zanieczyszczenie nimi środowiska, charakteryzuje *Danio rerio* i zarysowuje związek wielu zaburzeń procesów rozwojowych w tym nowotworów z estrogenami. Cel pracy jest jasno sformułowany, z celami szczegółowymi i hipotezami badawczymi. Rozdział Materiał i metody zawiera między innymi szczegółowy opis systemu

utrzymania larw z oceną jakości wody, przygotowania roztworów hormonów i izolacji materiału genetycznego oraz zastosowane metody statystyczne. Rezultaty badań zawarto na kolejnych stronach, omówiono i skonfrontowano z dotychczasowymi wynikami innych autorów.

Analizując opisane powyżej badania podkreślić należy wykorzystanie nowoczesnych metod badawczych i bardzo szczegółową dokumentację stosowanych metod.

Wyniki przeprowadzonych badań osadzonych w szerokim tle teoretycznym i metodycznym, o dużym znaczeniu poznawczym pozwoliły Autorowi na następujące ustalenia między innymi:

- poziomy względnej pigmentacji między oddziaływaniem 17- $\beta$ -estradiolu o stężeniu 10 ng /dm<sup>3</sup> i o stężeniu 1000 ng/dm<sup>3</sup> oraz o stężeniu 1000ng/dm<sup>3</sup> a kontrolą były statystycznie istotne; nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic, gdy badano wpływ estronu i estriolu;
- najniższy poziom ekspresji genu *cyb1b1* twierdzono, gdy stężenie estriolu wynosiło 10 ng/md<sup>3</sup>, a najwyższy gdy poziom ekspresji przy działaniu estronu o stężeniu 1000 ng/dm<sup>3</sup>,
- w przypadku trzech badanych grup estrogenów przy stężeniach 100 ng/dm<sup>3</sup> i 1000 ng/dm<sup>3</sup> stwierdzono istotne różnice w poziomie ekspresji genu *cyp1b1*;
- przy stężeniu 10 ng/dm<sup>3</sup> stwierdzono istotne różnice pomiędzy wpływem estriolu a pozostałymi hormonami i kontrolą;
- a zbiorcza analiza ogólnej korelacji pomiędzy pigmentacją badanych ryb a ekspresją genu *cyp1b1* wykazała istnienie dodatniej istotnej statystycznie korelacji.

Ustalenia te oceniam wysoko z uwagi oryginalność tego istotnego, jak wspomniałem wcześniej, poznawczo i aplikacyjnie zagadnienia.

Nie znaczy to, że Doktorant ustrzegł się przed pewnymi drobnymi niedokładnościami, jakie przedłożona rozprawa zawiera, jak choćby pominięcie

w celu pracy gatunku na którym wykonywano badania. Używanie w pracy skrótów np. E 3.2 zamiast nazwy hormonu i odpowiedniego stężenia co nie ułatwia czytania tekstu pracy. Brakujące – opuszczone litery i słowa w zdaniach, podpis zdjęcia na kolejnej stronie a nie pod wykresem, czy rozsunięty tekst – słowa w liniach rozprawy.

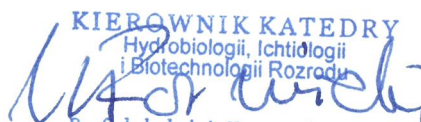
Wskazanie tych nieścisłości wiąże się z obowiązkiem recenzenta i świadczy o braku dokładności Doktoranta, ale nie wpływa na moją ogólną ocenę rozprawy doktorskiej pana mgr Konrada Wojnarowskiego.

Zatem biorąc pod uwagę:

- nowe dane jakie wnoszą do nauki badania Pana mgr Konrada Wojnarowskiego,
- wykazanie wpływu estronu i estriolu nie opisanych w piśmiennictwie,
- prawidłowo dobrane, nowoczesne metody badawcze,

można stwierdzić, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska pana mgr Konrada Wojnarowskiego w pełni odpowiada wymogom określonym w § 5 „Trybu postępowania w sprawie nadania stopnia naukowego doktora” wprowadzonego uchwałą nr 3/2021 Senatu Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 29 stycznia 2021 oraz wymogom zawartym w art.187 ustawy – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce stawianym rozprawom doktorskim i wnoszę wobec Wysokiej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o przyjęcie i dopuszczenie jej Autora do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Szczecin, 17 .08.2022 r.

KIEROWNIK KATEDRY  
Hydrobiologii, Ichtiologii  
i Biotechnologii Rozrodu  
  
Prof. dr hab. inż. Krzysztof Formicki