



MUZEUM I INSTYTUT ZOOLOGII POLSKIEJ AKADEMII NAUK

dr hab. inż. Anna Katarzyna Wrońska, prof. MiIZ

Muzeum i Instytut Zoologii PAN

ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa

awronska@miiz.waw.pl

Warszawa, dnia 28.08.2026 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr Hanny Gorol

**pt. „Ocena zmian wybranych parametrów cytotoksyczności w nabłonku jelita
środkowego *Neocaridina davidi* (Crustacea, Malacostraca) wywołanych obecnością
bisfenolu A”**

wykonanej w Instytucie Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska, Wydziału Nauk
Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach

pod kierunkiem prof. dr hab. Magdaleny Rost-Roszkowskiej

1. Znaczenie tematyki i uzasadnienie podjęcia badań

Recenzowana rozprawa dotyczy oceny cytotoksycznego działania bisfenolu A (BPA) na nabłonek jelita środkowego słodkowodnej krewetki *Neocaridina davidi*. Tematyka ta wpisuje się w istotny i wciąż aktualny nurt badań ekotoksykologicznych dotyczących wpływu antropogenicznych zanieczyszczeń środowiska wodnego na organizmy wodne. Na szczególne podkreślenie zasługuje przyjęte przez Doktorantkę holistyczne podejście badawcze, obejmujące jednocześnie poziom ultrastrukturalny, komórkowy i molekularny, a także dwa różne narządy tworzące jelito środkowe (jelito oraz wątrobotrzustkę), co pozwoliło uzyskać znacznie pełniejszy obraz procesów cytotoksycznych niż w typowych, jednowymiarowych badaniach tego typu.

Podjęta tematyka ma również wymiar aplikacyjny - *N. davidi* jest gatunkiem szeroko wykorzystywanym w akwarystyce i hodowli, a uzyskane wyniki mogą mieć znaczenie dla oceny ryzyka środowiskowego związanego z obecnością BPA w wodach powierzchniowych.

2. Charakter rozprawy i ocena formalna cyklu publikacji

Rozprawa została przygotowana w formie cyklu dwóch powiązanych tematycznie publikacji oryginalnych (Gorol i in. 2025, Gorol i in. 2026), opublikowanych w czasopiśmie The

European Zoological Journal (IF: 1,4 każda; łączny IF = 2,8; łączna liczba punktów MNiSW = 280), opatrzonej obszernym autoreferatem w języku polskim. Doktorantka jest pierwszą autorką obu prac, co jednoznacznie wskazuje na jej wiodącą rolę w realizacji badań i przygotowaniu publikacji. Całość rozprawy liczy 103 strony, a sam autoreferat obejmuje strony 5–43.

Struktura autoreferatu jest przejrzysta i logiczna, a poszczególne elementy rozprawy (wprowadzenie, cele, hipotezy, metody, wyniki, wnioski) tworzą spójną, dobrze zorganizowaną całość, co ułatwia ocenę merytoryczną przedstawionych badań.

3. Struktura rozprawy i jej podstawy merytoryczne

Autoreferat rozprawy ma przejrzystą, klasyczną strukturę, obejmującą kolejno: streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz prac naukowych wchodzących w skład cyklu, wprowadzenie teoretyczne, cele i hipotezy badawcze, materiały i metody, wyniki i dyskusję, wnioski oraz spis literatury (111 pozycji). Poszczególne części pozostają ze sobą w logicznym związku, a zachowane proporcje między nimi (obszerne, dobrze udokumentowane wprowadzenie prowadzące czytelnika od ogólnej charakterystyki zanieczyszczenia środowiska bisfenolem A, poprzez mechanizmy cytotoksyczności, aż po szczegółową charakterystykę modelu badawczego) tworzą spójne uzasadnienie dla podjętych badań.

Na podkreślenie zasługuje precyzyjne sformułowanie pięciu celów szczegółowych oraz ośmiu jasno zdefiniowanych hipotez badawczych (H1-H8), które są konsekwentnie przywoływane zarówno w rozdziale wyników i dyskusji, jak i we wnioskach - taki układ istotnie ułatwia ocenę stopnia realizacji założonych celów badawczych. Warto również zwrócić uwagę na sposób skonstruowania rozdziału „Wyniki i dyskusja”, który odpowiada kolejności obu publikacji wchodzących w skład cyklu i pozwala prześledzić logiczną progresję badań - od zmian ultrastrukturalnych i wskaźników proliferacji (praca 1), po mechanizmy śmierci komórkowej, stres oksydacyjny i zmiany potencjału mitochondrialnego (praca 2). Taka konstrukcja jasno pokazuje, w jaki sposób druga publikacja pogłębia i uzupełnia wyniki pierwszej, i świadczy o dojrzałym warsztacie naukowym Doktorantki.

4. Metodyka badań i wkład własny Doktorantki

Zakres zastosowanych metod należy ocenić jako bardzo szeroki i w pełni adekwatny do złożoności podjętego problemu badawczego. Doktorantka wykorzystwała metody jakościowe (mikroskopia świetlna z barwieniami histochemicznymi, transmisyjna mikroskopia elektronowa, mikroskopia konfokalna z wykorzystaniem czterech różnych sond fluorescencyjnych: LysoTracker Red, BODIPY, JC-1, ThiolTracker Violet) oraz ilościowe (cytometria przepływowa z użyciem siedmiu różnych zestawów odczynników MUSE, obejmujących m.in. analizę cyklu komórkowego, proliferacji, apoptozy/nekrozy, stresu oksydacyjnego, uszkodzeń DNA i aktywacji białka Bcl-2). Tak szeroki i zróżnicowany warsztat metodyczny na etapie doktoratu zasługuje na wysoką ocenę.

Prawidłowo dobrano również metodykę statystyczną - zastosowano testy Shapiro-Wilka i Levene'a do oceny założeń rozkładu i jednorodności wariancji, a następnie jedno- i wielokierunkową analizę wariancji (ANOVA/MANOVA) z testem post-hoc Tukeya, z uwzględnieniem interakcji między czynnikami (rodzaj narządu, stężenie BPA, czas ekspozycji). Takie podejście jest w pełni adekwatne do złożonego, trójczynnikaowego układu eksperymentalnego zastosowanego w pracy.

5. Najważniejsze mocne strony pracy

- Wielopoziomowe, zintegrowane podejście badawcze - rzadko spotykane na etapie doktoratu połączenie analiz ultrastrukturalnych, histochemicznych, mikroskopii konfokalnej i cytometrii przepływowej w ramach jednego spójnego projektu badawczego.
- Przejrzysta struktura hipotez badawczych - osiem precyzyjnie sformułowanych hipotez, konsekwentnie zweryfikowanych i podsumowanych we wnioskach.
- Biologicznie istotne, nietrywialne wnioski - m.in. wykazanie, że wątrobotrzustka jest narządem mniej wrażliwym na działanie BPA niż jelito, identyfikacja autofagii (w tym lipofagii) jako mechanizmu ochronnego oraz wykazanie dominującej roli nekrozy, a nie apoptozy, w procesach degeneracyjnych wywołanych BPA.
- Logiczna progresja cyklu publikacji - pierwsza praca ustala zmiany ultrastrukturalne, cykl komórkowy i proliferację, druga pogłębia mechanizm na poziomie molekularnym (apoptoza/nekroza, stres oksydacyjny, uszkodzenia DNA, potencjał mitochondrialny).
- Wartościowy wkład w rozwój *N. davidi* jako modelu badawczego - uzyskane wyniki wpisują się w spójną linię badawczą Zespołu i rozszerzają dotychczasową wiedzę o odpowiedzi jelita środkowego skorupiaków na czynniki stresowe o nowy, istotny środowiskowo ksenobiotyk.
- Publikacja wyników w uznanym, indeksowanym czasopiśmie z listy JCR, z wiodącym (pierwszym) autorstwem Doktorantki w obu pracach wchodzących w skład cyklu.

6. Uwagi szczegółowe i kwestie dyskusyjne

- Cykl publikacji obejmuje dwie prace opublikowane w tym samym czasopiśmie, o zbliżonym projekcie badawczym i częściowo pokrywającym się zespole współautorów. Proszę o komentarz Doktorantki, czy planowane jest rozszerzenie tej linii badawczej o publikacje w innych czasopismach lub o inne modele/narządy, co pozwoliłoby na szersze zweryfikowanie uzyskanych wyników.
- Warunki utrzymania grupy kontrolnej różniły się od warunków grup eksperymentalnych - podczas gdy zwierzęta eksponowane na BPA trzymano pojedynczo w pojemnikach o pojemności 0,5 l, grupę kontrolną stanowiły osobniki pochodzące z ciągłej hodowli w akwarium o pojemności 105 l. Sama izolacja w niewielkiej objętości może stanowić

dodatkowy czynnik stresowy dla zwierząt. Dodatkowo w schemacie eksperymentu (Tab. 3) przewidziano jedną wspólną grupę kontrolną dla wszystkich trzech punktów czasowych (24, 48 i 72 h), co przy analizie parametrów wrażliwych na czas trwania eksperymentu (np. poziom ROS, GSH, potencjał mitochondrialny) utrudnia jednoznaczne rozdzielenie efektu BPA od efektu samego czasu przebywania zwierzęcia w warunkach eksperymentalnych. Proszę o odniesienie się do tej kwestii.

- W autoreferacie ani w żadnej z prac wchodzących w skład cyklu nie podano danych dotyczących śmiertelności zwierząt w poszczególnych grupach eksperymentalnych. Informacja ta byłaby istotna dla potwierdzenia, że zastosowane stężenia BPA i czasy ekspozycji mieściły się w zakresie subletalnym, a obserwowane zmiany nie są obarczone efektem doboru, czyli przeżyciem jedynie najbardziej odpornych osobników.
- W opisie metod pojawia się drobna niespójność dotycząca sposobu znieczulania zwierząt przed sekcją - autoreferat (str. 15) podaje, że osobniki znieczulano chloroformem lub CO₂, podczas gdy w publikacji Gorol i in. (2026) wymieniono wyłącznie CO₂. Ponieważ chloroform może wpływać na funkcję mitochondriów, a wśród analizowanych parametrów cytotoxyczności znajdują się między innymi potencjał błony mitochondrialnej (JC-1) oraz poziom ROS, proszę o wyjaśnienie, którą metodę faktycznie zastosowano i czy sposób znieczulania był jednolity we wszystkich grupach badawczych.
- W autoreferacie zabrakło osobnego podrozdziału poświęconego ograniczeniom przeprowadzonych badań (np. różnice między warunkami laboratoryjnymi a środowiskowymi, brak danych o przeżywalności, wzroście czy rozrodzie na poziomie całego organizmu). Tego rodzaju refleksja krytyczna wzmocniłaby dojrzałość naukową dyskusji, tym bardziej że sama Doktorantka we wstępie słusznie wskazuje na deficyt badań łączących poziom komórkowy z poziomem organizmalnym/populacyjnym - warto, aby ten wątek domknęła *explicite* w podsumowaniu.
- Rozdział „Wyniki i dyskusja” ma w dużej mierze charakter opisowy - w tekście autoreferatu brakuje konkretnych wartości statystycznych (p, F) ilustrujących siłę i istotność opisywanych efektów, co utrudnia czytelnikowi samodzielną ocenę mocy poszczególnych obserwacji bez sięgania do pełnych publikacji.
- Część zastosowanych zestawów cytometrycznych (Muse Ki67, Muse Bcl-2 Activation Dual Detection Kit, Muse Multi-Color DNA Damage Kit) opiera się na przeciwciałach opracowanych pierwotnie dla białek ssaczych. Białko Ki-67, białka z rodziny Bcl-2 oraz szlak ATM/γH2A.X należą do stosunkowo dobrze konserwowanych ewolucyjnie elementów maszyneryi komórkowej, co może częściowo uzasadniać zastosowanie takich zestawów również u skorupiaków, jednak dystans filogenetyczny między ssakami a Crustacea pozostaje znaczny. Proszę o komentarz, czy przeprowadzono jakąkolwiek walidację reaktywności krzyżowej tych przeciwciał u *N. davidi* (np. Western blot, kontrola izotypowa).

- Hipoteza H7 zakłada istnienie wyraźnej zależności pomiędzy zmianami zachodzącymi na terenie komórek i organelli a stężeniem ROS oraz enzymów antyoksydacyjnych, jednak w pracy nie przedstawiono analizy korelacji ani regresji między tymi parametrami - wniosek o takiej zależności opiera się na współwystępowaniu opisowym. Proszę o komentarz, czy taka analiza ilościowa była możliwa lub jest planowana w celu bezpośredniego potwierdzenia H7.
- We wniosku 5. mowa jest ogólnie o „aktywności systemu antyoksydacyjnego” pod wpływem BPA, tymczasem w ramach przeprowadzonych badań oznaczono wyłącznie poziom zredukowanego glutationu (GSH), a więc jednego, nieenzymatycznego elementu tego systemu. Warto doprecyzować sformułowanie wniosków, tak aby odpowiadały one dokładnie zakresowi uzyskanych danych - sama Doktorantka trafnie zauważa zresztą w dyskusji (str. 30), że ocena enzymów antyoksydacyjnych (katalazy, peroksydazy, dysmutazy nadadtlenkowej) pozostaje kierunkiem dalszych badań.

7. Uwagi redakcyjne i techniczne

Poniższe, czysto techniczne usterki w żaden sposób nie umniejszają wysokiej wartości merytorycznej pracy, warto je jednak skorygować w ostatecznej wersji dokumentu:

- W streszczeniu polskim (str. 1) zdanie „Jednowarstwowy nabłonek jelita składa się z komórek E oraz z różnicujących się komórek: fibrylarnych/włóknistych (F), resorpcyjnych (R), a także spichrzowych/magazynujących (B)” opisuje w rzeczywistości budowę wątrobotrzustki, a nie jelita - potwierdza to poprawne sformułowanie w wersji angielskiej („Its single-layer epithelium consists of...”, odnoszące się do „The hepatopancreas”). Warto skorygować to przeoczenie w ostatecznej wersji dokumentu.
- W opisie wyników TEM (str. 21 autoreferatu) pojawia się oznaczenie grupy „5In25”, które nie występuje w przyjętym schemacie nazewnictwa grup eksperymentalnych (Tab. 3) - prawdopodobnie powinno to być „5In24”. Warto skorygować tę nieścisłość w ostatecznej wersji dokumentu.
- We wstępie (str. 8) nazwisko Promotorki zostało raz błędnie zapisane jako „Roszt-Roszkowska” zamiast „Rost-Roszkowska”.
- W opisie metod (zarówno w autoreferacie, jak i w tekście opublikowanej pracy Gorol i in. 2026) trzykrotnie pozostały niewyczyszczone fragmenty linków w formacie „chrome-extension://...” (pozostałość po kopiowaniu adresów protokołów producenta z rozszerzenia przeglądarki). Jest to drobne niedopatrzenie redakcyjne, które nie wpływa na wartość merytoryczną pracy, warto je jednak skorygować przy kolejnych publikacjach.
- Załączone oświadczenia współautorów publikacji określają wkład poszczególnych osób wyłącznie w sposób opisowy, bez podania wartości procentowej - jest to zgodne z obowiązującym na Uniwersytecie Śląskim wzorem dokumentu (Załącznik nr 9/10 do

pisma okólnego nr 2 Prorektora ds. nauki i finansów z dnia 19 lutego 2024 r.) i nie stanowi żadnego uchybienia formalnego. Warto jednak zaznaczyć, że uzupełnienie tych oświadczeń o wartości procentowe jeszcze wyraźniej podkreślałoby wiodącą rolę Doktorantki w powstaniu obu prac, co i tak jasno wynika z ich opisowej treści.

- Rozdziały „OŚWIADCZENIA AUTORÓW PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD ROZPRAWY DOKTORSKIEJ” (str. 87) oraz „DODATKOWE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE” (str. 100) zostały oznaczone tym samym numerem VI, co widoczne jest również w spisie treści.
- Na str. 25 znajduje się niedokończone zdanie: „...przez co nie wchodzi ona w fazę S i (Trzcińska 2003)”.
- W tekście występuje kilka drobnych literówek, np. „nadajęą” (str. 12), „watrobotrzustka”/„watrobotrzustki” zapisane bez polskiego znaku diakrytycznego (str. 21), „fibryllarne” (str. 21), „Muse Milticaspase Kit” zamiast „Muse MultiCaspase Kit” (str. 30), „STANOWIACEGO” w spisie treści oraz na str. 44, a także błędnie połączony znak „\Studies” na początku akapitu w Abstract (str. 3).
- W tekście pojawiają się drobne niespójności w formie cytowań, np. „Aaser 2024” zapisane jako cytowanie jednoautorskie, mimo że w spisie literatury jest to praca dwuautorska, „Gao 2025” cytowane bez „i in.”, mimo że w spisie literatury jest to praca dwunastu autorów, odwrotnie „D’Arcy i in. 2019”, które sugeruje wieloautorstwo, choć w spisie literatury to praca jednoautorska, a także „Combelle 2009” i „Combelle i in. 2009” użyte zamiennie w obrębie jednego akapitu oraz błędy w zapisie nazwisk: „Johnson i Giulivi 2005” (powinno być Giulivi) i „Dröge” zamiast „Dröge”.

8. Dodatkowy dorobek naukowy i aktywność Doktorantki

Poza publikacjami wchodzącymi w skład cyklu, na uznanie zasługuje aktywność naukowa i popularyzatorska Doktorantki. Prezentowała wyniki swoich badań w formie posterów na trzech konferencjach międzynarodowych (Heidelberg, Niemcy, 2019; Katowice, Polska, 2024; Stará Lesná, Słowacja, 2025), uczestniczyła ponadto w warsztatach i kursach zagranicznych (Walencja, Barcelona) oraz krajowych (Warszawa), zdobywając cenne umiejętności praktyczne, a także jest członkinią European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Odbyła również staż zagraniczny pod opieką dr. Richarda Galajdy na University of Veterinary Medicine and Pharmacy w Koszycach. Doktorantka angażowała się ponadto w działalność popularyzatorską (m.in. warsztaty w ramach Nocy Biologów oraz Śląskiego Festiwalu Nauki).

Ta wszechstronna aktywność świadczy o dojrzałości naukowej i dobrym przygotowaniu Doktorantki do dalszej kariery badawczej. W dalszym rozwoju naukowym rekomendowałabym rozważenie odbycia dłuższych, kilku- lub kilkunastotygodniowych staży badawczych w

ośrodkach zagranicznych, co pozwoliłoby na jeszcze pełniejsze wykorzystanie potencjału międzynarodowej współpracy nawiązanej już podczas realizowanych badań.

9. Podsumowanie i wniosek końcowy

Mimo przedstawionych uwag krytycznych, mających głównie charakter pytań i sugestii do dalszej dyskusji, oceniam rozprawę doktorską mgr Hanny Gorol bardzo wysoko. Praca stanowi wartościowe, oryginalne osiągnięcie naukowe, oparte na szerokim i nowoczesnym warsztacie metodycznym, wnoszące istotne dane do wiedzy o mechanizmach cytotoksyczności bisfenolu A u słodkowodnych skorupiaków. Lektura rozprawy nie pozostawia wątpliwości, że Doktorantka posiada gruntowną wiedzę teoretyczną w zakresie dyscypliny nauki biologiczne oraz umiejętność samodzielnego planowania, realizacji i interpretacji złożonych badań naukowych.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571). W szczególności rozprawa prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w dyscyplinie nauki biologiczne oraz jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej (art. 187 ust. 1), a przedstawione w niej wyniki stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego (art. 187 ust. 2). Przyjęta forma spójnego tematycznie cyklu dwóch opublikowanych artykułów naukowych, opatrzonego obszernym autorefereatem, jest zgodna z dopuszczalną formą rozprawy doktorskiej określoną w art. 187 ust. 3 ww. ustawy. W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o dopuszczenie mgr Hanny Gorol do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.



.....
dr hab. inż. Anna Wrońska