

dr hab. Wacław Tworzydło, prof. UJ

Zakład Biologii Rozwoju i Morfologii Bezkręgowców

Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych

Uniwersytet Jagielloński w Krakowie



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

O C E N A

rozprawy doktorskiej pani mgr Patrycji Mermer

pt. „Analiza wpływu diety z polipropylenem na strukturę komórek wybranych
narządów larw *Galleria mellonella* (Insecta, Lepidoptera, Pyralidae) ze
szczególnym uwzględnieniem procesów śmierci komórkowej”

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Zakład Biologii Rozwoju

i Morfologii Bezkręgowców

1. Informacje ogólne o pracy

Tworzywa sztuczne należą obecnie do najpoważniejszych zagrożeń środowiskowych związanych z działalnością człowieka. Ich masowa produkcja oraz wyjątkowa trwałość sprawiły, że mikro- i nanoplastiki stały się powszechnym składnikiem niemal wszystkich ekosystemów, od środowisk wodnych i glebowych po organizmy roślin, zwierząt i człowieka. W ostatnich latach szczególną uwagę poświęca się nie tylko możliwościom ograniczenia zanieczyszczenia środowiska tworzywami sztucznymi, ale również poznaniu mechanizmów ich oddziaływania na organizmy żywe oraz poszukiwaniu organizmów zdolnych do ich biodegradacji.

Jednym z najlepiej poznanych modeli wykorzystywanych w tego typu badaniach są larwy barciaka większego, *Galleria mellonella*. Gatunek ten od wielu lat znajduje zastosowanie w badaniach z zakresu fizjologii, immunologii i toksykologii owadów, a w ostatnim czasie zwrócił również uwagę jako organizm potencjalnie zdolny do przetwarzania niektórych tworzyw sztucznych. Pomimo licznych doniesień dotyczących możliwości biodegradacji polietylenu czy polipropylenu przez larwy *Galleria mellonella*, nadal stosunkowo niewiele wiadomo o komórkowych i ultrastrukturalnych konsekwencjach długotrwałego kontaktu tkanek tego owada z tworzywami sztucznymi. Szczególnie słabo poznane pozostają mechanizmy odpowiedzi komórkowej związane ze stresem oksydacyjnym, funkcjonowaniem mitochondriów, aktywacją autofagii oraz procesami śmierci komórkowej.

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel. +48 12 664 5090

+48 12 664 5981

Praca doktorska pani mgr Patrycji Mermer stanowi próbę uzupełnienia tej luki badawczej. Doktorantka podjęła się kompleksowej analizy wpływu diety zawierającej polipropylen na strukturę i ultrastrukturę komórek jelita środkowego, ciała tłuszczowego oraz gruczołu przedniego larw *Galleria mellonella*, ze szczególnym uwzględnieniem procesów śmierci komórkowej i odpowiedzi na stres komórkowy. Na podkreślenie zasługuje fakt, że badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem szerokiego zestawu wzajemnie uzupełniających się metod obejmujących transmisyjną mikroskopię elektronową, mikroskopię konfokalną, cytometrię przepływową oraz analizy luminometryczne, co pozwoliło na wieloaspektową ocenę zmian zachodzących w badanych tkankach.

Oceniana rozprawa bardzo dobrze wpisuje się również w nurt badań prowadzonych w zespole kierowanym przez promotorkę, prof. dr hab. Magdalenę Rost-Roszkowską, rozwijając zagadnienia dotyczące ultrastruktury tkanek bezkręgowców oraz mechanizmów śmierci komórkowej. W świetle powyższych informacji uważam, że zarówno wybór tematyki rozprawy, jak i zastosowanego modelu badawczego są wyjątkowo trafne, aktualne i w pełni uzasadnione.

2. Poprawność redakcyjna rozprawy

Oceniana rozprawa doktorska ma formę cyklu trzech publikacji naukowych opublikowanych w latach 2024–2026 w czasopismach *The European Zoological Journal* (dwie prace) oraz *Scientific Reports* (jedna praca). Dwie publikacje mają charakter prac oryginalnych, natomiast trzecia jest artykułem przeglądowym. Wszystkie zostały opublikowane w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR). Łączny współczynnik Impact Factor publikacji wchodzących w skład rozprawy wynosi 6,9, a ich łączna wartość punktowa według obowiązującego wykazu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego wynosi 420 punktów. Wszystkie publikacje są pracami wieloautorskimi. Z dołączonych do rozprawy oświadczeń współautorów jednoznacznie wynika, że udział Doktorantki był znaczący i obejmował opracowanie koncepcji badań, przygotowanie materiału biologicznego, wykonanie doświadczeń, analizę i interpretację wyników oraz przygotowanie manuskryptów do publikacji. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że pani mgr Patrycja Mermer jest pierwszą autorką dwóch prac stanowiących podstawę rozprawy, co potwierdza jej wiodącą rolę w realizacji badań. Do cyklu publikacji dołączono Autoreferat zawierający wprowadzenie, cele i hipotezy badawcze, opis materiału i metod, omówienie wyników wraz z dyskusją, wnioski

oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Układ autoreferatu jest logiczny i przejrzysty. Poszczególne części zachowują właściwe proporcje, a ich kolejność ułatwia śledzenie toku rozumowania Autorki.

Trudno szczegółowo oceniać stronę redakcyjną samych publikacji, ponieważ zostały one przygotowane zgodnie z wymaganiami poszczególnych czasopism oraz poddane procedurze recenzyjnej (często wieloetapowej) i edytorskiej. Na szczególne uznanie zasługuje bogata dokumentacja ilustracyjna. Zarówno mikrofotografie wykonane z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej, jak i obrazy uzyskane przy użyciu mikroskopii konfokalnej są bardzo dobrej jakości, są czytelne, właściwie opisane, a ich interpretacja nie budzi najmniejszych zastrzeżeń.

Autoreferat został przygotowany starannie i jest napisany poprawnym językiem. W tekście można znaleźć nieliczne usterki redakcyjne i drobne niezręczności stylistyczne, jednak mają one charakter incydentalny i w żaden sposób nie wpływają na wartość naukową rozprawy, a wspominam o tym jedynie z obowiązku recenzenta.

3. Ocena merytoryczna rozprawy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest spójnym opracowaniem poświęconym wpływowi diety zawierającej polipropylen na ultrastrukturę komórek oraz wybrane parametry cytotoksyczności w narządach larw *Galleria mellonella*. Autorka skoncentrowała się na analizie trzech narządów pełniących kluczowe funkcje fizjologiczne, tj. jelita środkowego, ciała tłuszczowego oraz gruczołu przedniego, badając odpowiedź komórek na działanie tworzywa sztucznego na poziomie ultrastrukturalnym, fizjologicznym i molekularnym. Tak szerokie ujęcie problemu pozwoliło spojrzeć na odpowiedź organizmu nie z perspektywy pojedynczego markera, lecz jako złożony zespół wzajemnie powiązanych procesów komórkowych.

Hipotezy badawcze oraz cele pracy zostały sformułowane jasno i precyzyjnie, a przedstawione wyniki wskazują, że hipotezy zostały zweryfikowane, a cele w pełni zrealizowane. Autorka wykazała, iż spożywanie polipropylenu prowadzi do zmian w ultrastrukturze komórek badanych narządów, wpływa na poziom stresu oksydacyjnego, funkcjonowanie mitochondriów, aktywność białka Bcl-2, uszkodzenia DNA oraz przebieg cyklu komórkowego. Jednocześnie wykazała aktywację mechanizmów, które można interpretować jako odpowiedź adaptacyjną

organizmu na działanie badanego stresora, takich jak zwiększona liczba struktur autofagicznych czy nasilona aktywność układów antyoksydacyjnych. Wyniki te tworzą spójny obraz odpowiedzi komórek na przewlekły kontakt z polipropylenem.

4. Ocena wartości naukowej pracy

Rozprawa doktorska powinna być osiągnięciem naukowym. W pracy pani mgr Patrycji Mermer wyników, które zasługują na miano osiągnięcia naukowego jest co najmniej kilka. Największą wartością ocenianej rozprawy jest moim zdaniem wykazanie, że odpowiedź komórek na spożywanie polipropylenu nie ogranicza się do pojedynczego procesu cytotoksycznego, lecz obejmuje złożoną sieć mechanizmów odpowiedzialnych zarówno za powstawanie uszkodzeń, jak i utrzymanie homeostazy komórkowej. Uzyskane wyniki dostarczają nowych danych, które poszerzają wiedzę dotyczącą biologicznych konsekwencji kontaktu organizmów z tworzywami sztucznymi.

Jak jednoznacznie wynika z przedstawionych powyżej informacji, przedstawiona rozprawa doktorska jest oryginalnym rozwiązaniem problemu badawczego, jednak kilka zagadnień skłania do dyskusji i zasługuje na szerszy komentarz.

Pierwsza uwaga dotyczy interpretacji wyników odnoszących się do autofagii.

Doktorantka wykazała zwiększoną liczbę struktur autofagicznych w komórkach narządów larw karmionych polipropylenem i interpretuje ten wynik jako aktywację procesu autofagii. Należy jednak pamiętać, że sama obecność lub zwiększona liczba autofagosomów nie stanowi jednoznacznego dowodu nasilenia procesu autofagii.

Równie dobrze może ona świadczyć o zahamowaniu późniejszych etapów tego procesu, co prowadzi do kumulacji struktur autofagicznych. Rozstrzygnięcie tej kwestii wymagałoby oceny tzw. *autophagic flux*. Rozumiem, że w przypadku badań prowadzonych na organizmach niemodelowych tego typu analizy nie zawsze są możliwe do wykonania, jednak moim zdaniem kwestia ta mogłaby zostać szerzej omówiona podczas interpretacji i dyskusji wyników.

Drugie zagadnienie dotyczy samego pojęcia biodegradacji polipropylenu. Rozprawa pani Patrycji Mermer koncentruje się przede wszystkim na odpowiedzi komórek organizmu na spożywanie polipropylenu i bardzo dobrze realizuje ten cel. W mojej opinii pewien niedosyt pozostawia jednak brak prób bezpośredniej oceny losów samego polimeru po przejściu przez przewód pokarmowy larw. Analiza składu chemicznego lub morfologii cząstek obecnych w odchodach mogłaby pozwolić odpowiedzieć na pytanie, czy obserwowane zjawiska są wynikiem rzeczywistej

biodegradacji polipropylenu, czy też jego częściowej biotransformacji albo jedynie mechanicznej fragmentacji. Rozróżnienie tych procesów wydaje się niezwykle istotne z punktu widzenia ekologicznego, ponieważ rozdrabnianie plastiku do mikro- lub nanoplastików nie musi oznaczać jego skutecznej eliminacji ze środowiska, a wręcz przeciwnie, może zwiększać jego dostępność biologiczną. Kolejna kwestia wiąże się z interpretacją zmian obserwowanych u larw karmionych wyłącznie polipropylenem. Trudno jednoznacznie rozstrzygnąć, jaka część obserwowanych zmian wynika z toksycznego działania samego tworzywa, a jaka może być konsekwencją niedoboru składników odżywczych związanych z dietą praktycznie pozbawioną wartości odżywczych. Co prawda w doświadczeniu uwzględniono grupę głodzonych larw, jednak zależności pomiędzy stresem żywieniowym a działaniem polipropylenu mogłyby zostać szerzej omówione w dyskusji.

Pragnę jednak podkreślić, że przedstawione powyżej uwagi mają charakter dyskusyjny i wynikają z wielowątkowości podjętej problematyki badawczej. Nie wpływają one na moją jednoznacznie pozytywną ocenę rozprawy, lecz wskazują kierunki dalszych badań oraz zagadnienia, które Doktorantka mogłaby szerzej omówić podczas publicznej obrony.

Analiza rozprawy oraz dorobku publikacyjnego przedstawionego przez Doktorantkę pozwala stwierdzić, że pani mgr Patrycja Mermer posiada umiejętność samodzielnego planowania i prowadzenia badań naukowych, właściwego doboru metod badawczych, krytycznej analizy uzyskanych wyników oraz przygotowywania publikacji naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

5. Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę wszystkie powyższe dane stwierdzam, że rozprawa doktorska pani mgr Patrycji Mermer pt. „Analiza wpływu diety z polipropylenem na strukturę komórek wybranych narządów larw *Galleria mellonella* (Insecta, Lepidoptera, Pyralidae) ze szczególnym uwzględnieniem procesów śmierci komórkowej” spełnia wymagania zawarte w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2024 poz. 1571) i wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o dopuszczenie pani mgr Patrycji Mermer do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. Równocześnie, biorąc pod uwagę

wartość merytoryczną pracy, jej oryginalność, szeroko zakrojoną problematykę, nowoczesną i rozbudowaną metodykę oraz opublikowanie prac wchodzących w skład rozprawy w recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym z pełnym przekonaniem wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pani mgr Patrycji Mermer.

Kraków, 17 lipca 2026

