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

Wydział Biologii

Instytut Zoologii
i Badań Biomedycznych

Zakład Biologii Rozwoju
i Morfologii Bezkręgowców

O C E N A

rozprawy doktorskiej pani mgr Aleksandry Miernik

pt. „ Wpływ ibuprofenu na biologię niesporczaka *Paramacrobiotus experimentalis* Kaczmarek, Mioduchowska, Poprawa, Roszkowska 2020 (Tardigrada, Eutardigrada)"

1. Informacje ogólne o pracy

Leki stanowią obecnie coraz istotniejszą grupę zanieczyszczeń środowiska. Ich powszechne stosowanie, ciągłe uwalnianie wraz ze ściekami oraz niepełne usuwanie w procesach oczyszczania powodują, że pozostałości wielu substancji leczniczych są wykrywane w wodach powierzchniowych, osadach, glebie i wodach gruntowych. Szczególne zainteresowanie budzą niesteroidowe leki przeciwzapalne, należące do najczęściej stosowanych preparatów farmaceutycznych. Jednym z nich jest ibuprofen, którego obecność w środowisku wodnym może prowadzić do długotrwałej ekspozycji organizmów na stężenia znacznie niższe od stosowanych terapeutycznie. Z tego względu poznanie biologicznych skutków takiej ekspozycji, zwłaszcza u organizmów bezkręgowych, stanowi ważny problem współczesnej ekotoksykologii. Praca doktorska Pani mgr Aleksandry Miernik stanowi kompleksową analizę wpływu krótko- i długotrwałej ekspozycji na ibuprofen na biologię jednego z gatunków niesporczaków. Na podkreślenie zasługuje wielopoziomowy charakter przeprowadzonych badań. Doktorantka analizowała zarówno parametry odnoszące się do funkcjonowania całego organizmu, obejmujące przeżywalność, rozrodczość i zdolność do anhydrobiozy, jak również zmiany zachodzące na poziomie narządów, komórek i organelli. W swoich badaniach pani Miernik wykorzystała szereg nowoczesnych technik badawczych i metod obrazowania. W świetle powyższych informacji zarówno wybór tematyki rozprawy, jak i zastosowany model badawczy oraz przyjęte podejście eksperymentalne uważam za aktualne, interesujące i w pełni uzasadnione.

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel. +48 12 664 5090
+48 12 664 5981
fax +48 12 664 5101
w.tworzydlo@uj.edu.pl

2. Poprawność redakcyjna rozprawy

Oceniana rozprawa doktorska ma formę cyklu trzech prac oryginalnych opublikowanych w latach 2024–2026 w czasopismach *The European Zoological Journal* (Miernik i wsp., 2024a), *Diversity* (Miernik i wsp. 2024b) oraz *Zoological Journal of the Linnean Society* (Miernik i wsp., 2026). Łączny współczynnik Impact Factor publikacji wchodzących w skład rozprawy wynosi 6,5, a ich łączna wartość punktowa według obowiązującego wykazu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego wynosi 350 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 we wszystkich pracach pani mgr Aleksandra Miernik jest pierwszą autorką, co dodatkowo potwierdza jej wiodącą rolę w realizacji badań. Podobnie jak w przypadku każdej rozprawy przygotowanej w formie cyklu publikacji, szczegółowa ocena strony redakcyjnej samych artykułów jest trudna, ponieważ zostały one przygotowane zgodnie z wymaganiami poszczególnych czasopism i poddane niezależnej procedurze recenzyjnej oraz redakcyjnej. Na uznanie zasługuje natomiast dokumentacja mikroskopowa stanowiąca istotną część ocenianych prac. Obrazy uzyskane z wykorzystaniem mikroskopii świetlnej, transmisyjnej i skaningowej mikroskopii elektronowej oraz mikroskopii konfokalnej są wysokiej jakości, ich interpretacja nie budzi najmniejszych zastrzeżeń i w czytelny sposób dokumentują one opisywane zmiany morfologiczne i ultrastrukturalne oraz stanowią ważne uzupełnienie pozostałych wyników eksperymentalnych.

Autoreferat, w którym Doktorantka przedstawia wyniki swoich prac, został przygotowany starannie i napisany poprawnym językiem naukowym. Tekst jest czytelny, a sposób prezentacji wyników pozwala na łatwe prześledzenie toku rozumowania Autorki.

3. Ocena merytoryczna rozprawy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest spójnym opracowaniem poświęconym wpływowi ibuprofenu na biologię niesporczaka *Paramacrobiotus experimentalis*. Za istotną zaletę pracy uważam wielopoziomowe podejście do

badanego problemu. Doktorantka nie ograniczyła się do oceny przeżywalności zwierząt eksponowanych na ibuprofen, lecz uwzględniła również parametry związane z rozrodczością i zdolnością do anhydrobiozy, a następnie zestawiła je ze zmianami obserwowanymi na poziomie wybranych narządów, komórek i organelli. Dobór analizowanych narządów, tj. jelita środkowego, ciałek spichrzowych oraz jajnika, uważam za dobrze uzasadniony z punktu widzenia postawionych celów badawczych. Narządy te pełnią odmienne funkcje fizjologiczne, co pozwoliło ocenić, czy odpowiedź na badany związek ma charakter ogólny, czy też wykazuje zróżnicowanie tkankowe. Istotnym atutem pracy jest również zastosowanie komplementarnych metod badawczych, obejmujących mikroskopię świetlną, transmisyjną i skaningową mikroskopię elektronową oraz mikroskopię konfokalną. Umożliwiło to powiązanie obserwacji dotyczących biologii całego organizmu ze zmianami morfologicznymi i ultrastrukturalnymi oraz z procesami związanymi między innymi ze stresem oksydacyjnym i śmiercią komórkową.
Cele pracy zostały sformułowane jasno, a zastosowana metodyka umożliwiła ich realizację. Uzyskane wyniki wskazują, że ekspozycja na ibuprofen nie powodowała wyraźnych zmian przeżywalności, rozrodczości ani zdolności *Paramacrobiotus experimentalis* do anhydrobiozy, podczas gdy jednocześnie na poziomie komórkowym i ultrastrukturalnym obserwowano zmiany świadczące o odpowiedzi organizmu na działanie badanego związku. To zestawienie efektów obserwowanych na różnych poziomach organizacji biologicznej uważam za szczególnie interesujący element przeprowadzonych badań.

4. Ocena wartości naukowej pracy

Największą wartością naukową ocenianej rozprawy jest, moim zdaniem, wykazanie, że brak wyraźnych efektów działania ibuprofenu na poziomie całego organizmu nie oznacza braku odpowiedzi na poziomie komórkowym. Pomimo że ekspozycja na badany związek nie powodowała istotnych zmian przeżywalności, rozrodczości ani zdolności do anhydrobiozy, w analizowanych narządach obserwowano zmiany ultrastrukturalne oraz procesy związane ze stresem oksydacyjnym, autofagią i śmiercią komórkową. Wyniki te wskazują na dużą zdolność badanego gatunku do kompensowania skutków działania stresora i jednocześnie pokazują, że klasyczne parametry stosowane w badaniach ekotoksykologicznych mogą nie ujawniać zmian zachodzących na poziomie komórkowym. Uważam, że właśnie zestawienie

odpowiedzi na różnych poziomach organizacji biologicznej stanowi jedno z najciekawszych osiągnięć ocenianej rozprawy.

Na uwagę zasługuje również wykorzystanie niesporczaków jako modelu w badaniach nad oddziaływaniem zanieczyszczeń farmaceutycznych. Szczególnie interesujące było uwzględnienie anhydrobiozy, charakterystycznej dla badanej grupy zwierząt strategii przetrwania w niekorzystnych warunkach środowiskowych. Pozwoliło to wyjść poza standardową ocenę toksyczności badanego związku i postawić pytanie, czy przewlekły kontakt z ibuprofenem może wpływać na jedną z najważniejszych biologicznych właściwości niesporczaków.

Przedstawiona rozprawa stanowi zatem oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i dostarcza nowych danych dotyczących biologicznych skutków ekspozycji niesporczaków na ibuprofen. Jednocześnie kilka zagadnień skłania do dyskusji i, w mojej opinii, zasługuje na szerszy komentarz.

Pierwsza uwaga dotyczy interpretacji wyników odnoszących się do autofagii. Obserwacja struktur autofagicznych w transmisyjnym mikroskopie elektronowym oraz wzrost sygnału po zastosowaniu LysoTrackera wskazują na zmiany w obrębie przedziałów autofagiczno-lizosomalnych, jednak same w sobie nie pozwalają jednoznacznie stwierdzić, że doszło do zwiększenia intensywności całego procesu autofagii. Zwiększona liczba autofagosomów może bowiem wynikać zarówno z nasilenia ich powstawania, jak i z ograniczenia późniejszych etapów procesu i ich akumulacji. Pełne rozstrzygnięcie tej kwestii wymagałoby analizy przepływu autofagicznego (*autophagic flux*). Rozumiem ograniczenia związane z prowadzeniem tego typu analiz u organizmu niemodelowego, niemniej zagadnienie to mogłoby zostać szerzej przedyskutowane podczas interpretacji uzyskanych wyników.

Drugie zagadnienie dotyczy biologicznego znaczenia zmian obserwowanych na poziomie komórkowym. Pomimo wykazania szeregu zmian ultrastrukturalnych oraz markerów stresu komórkowego, nie stwierdzono wyraźnego pogorszenia przeżywalności, rozrodczości ani zdolności do anhydrobiozy. Powstaje zatem pytanie, czy obserwowane zmiany należy interpretować przede wszystkim jako początkowe efekty toksycznego działania ibuprofenu, czy raczej jako element skutecznej odpowiedzi adaptacyjnej umożliwiającej utrzymanie homeostazy organizmu. Rozróżnienie tych dwóch możliwości wydaje mi się szczególnie istotne dla właściwej interpretacji biologicznego znaczenia uzyskanych wyników.

Interesująca jest również kwestia wyboru ibuprofenu jako badanego farmaceutyku. Jego powszechne stosowanie i obecność w środowisku wodnym dobrze uzasadniają wykorzystanie tego związku w przeprowadzonych badaniach. Warto jednak zastanowić się, czy podobną odpowiedź komórkową obserwowano by również po ekspozycji na inne powszechnie stosowane leki dostępne bez recepty, np. paracetamol czy diklofenak. Badania porównawcze obejmujące farmaceutyki o różnych mechanizmach działania mogłyby pozwolić określić, czy obserwowane zmiany są specyficzną odpowiedzią na ibuprofen, czy też bardziej uniwersalną reakcją *Paramacrobiotus experimentalis* na obecność farmaceutyków w środowisku.

Pragnę jednak podkreślić, że przedstawione powyżej uwagi nie są w żaden sposób zarzutami, lecz mają charakter dyskusyjny i nie wpływają na moją bardzo wysoką ocenę recenzowanej rozprawy. Przeciwnie, wynikają one z interesującego i wielowątkowego charakteru uzyskanych wyników oraz wskazują zagadnienia, które mogą stanowić punkt wyjścia do dalszych badań i interesującej dyskusji podczas publicznej obrony.

5. Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę wszystkie powyższe dane stwierdzam, że rozprawa doktorska pani mgr Aleksandry Miernik pt. „Wpływ ibuprofenu na biologię niesporczaka *Paramacrobiotus experimentalis* Kaczmarek, Mioduchowska, Poprawa, Roszkowska 2020 (Tardigrada, Eutardigrada)" spełnia wymagania zawarte w art. 187 ustawy z dnia 18 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 Aleksandry Miernik do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. Równocześnie, biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną rozprawy, oryginalność uzyskanych wyników, spójność przedstawionego cyklu publikacji, szeroki zakres przeprowadzonych badań oraz zastosowanie różnorodnych i komplementarnych metod badawczych, z pełnym przekonaniem wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pani mgr Aleksandry Miernik.

Kraków, 12 października 2026

