dr hab. Anna Gajda, prof. instytutu
Dział Badań Chemicznych Żywności i Pasz
Państwowy Instytut Weterynaryjny –
Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Puławy, 28.10.2025

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Aleksandry Łukawskiej

„Wpływ bisfenolu A i jego wybranych analogów (bisfenolu F, AF i S) na aktywność skurczową macicy świni"

Przedłożona do recenzji praca została wykonana pod kierunkiem Promotora Pana dr hab. Włodzimierza Markiewicza, prof. UWM oraz Promotora pomocniczego Pani dr Agnieszki Jasieckiej-Mikołajczyk w Katedrze Farmakologii i Toksykologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Podstawą formalną wykonania niniejszej recenzji jest Uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, z dania 26 września 2025 oraz pismo Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, prof. dr hab. Tomasza Maślanki z dnia 10 października 2025.

Bisfenole, w tym najczęściej badany bisfenol A (BPA), są syntetycznymi związkami chemicznymi używanymi głównie do produkcji tworzyw sztucznych, takich jak poliwęglany i żywice epoksydowe. Ze względu na swoją wszechobecność w produktach codziennego użytku (np. w plastikowych butelkach, puszkach na żywność, paragonach termicznych), stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia zarówno ludzi, jak i zwierząt. Bisfenole zaliczane do ksenostrogenów, mogą negatywnie oddziaływać na układ hormonalny i rozrodczy poprzez zaburzenia płodności, zwiększenie ryzyka poronień, zwiększenie rozwoju niektórych nowotworów hormonozależnych, zaburzenia funkcjonowania tarczycy, jak również zaburzenia

pewnych procesów metabolicznych. Wysokie stężenia BPA można wiązać również z chorobami układu krążenia, cukrzycą, zaburzeniami prawidłowego funkcjonowania układu odpornościowego czy też centralnego układu nerwowego. Z uwagi na fakt, że bisfenole są powszechne w środowisku i mogą migrować do żywności, badania w tej dziedzinie są niezwykle istotne w ocenie ich wpływu na zdrowie ludzi i zwierząt. Wykrywanie BPA i jego analogów w tkankach zwierząt i ludzi (np. w moczu, krwi pępowinowej, mleku matki, w surowicy krwi dorosłych osób, tkance tłuszczowej) jest dowodem na globalne i ciągłe narażenie na te związki.

Wiedza dotycząca wpływu bisfenolu A i jego analogów (BPF, BPAF i BPS) na aktywność skurczową macicy świni jest wciąż ograniczona. Dane pochodzące z badań przeprowadzonych na innych modelach zwierzęcych, w szczególności gryzoniach, wskazują na ryzyko negatywnego oddziaływania tych związków na układ rozrodczy, w tym na czynność skurczową macicy. I właśnie na tym kluczowym aspekcie wpływu związków bisfenolowych na macicę świń skupiła się Doktoranta w swojej pracy.

Doktorantka postawiła sobie za cel poszerzenie wiedzy na temat wpływu BPA i jego analogów na kurczliwość macicy świń o różnym statusie hormonalnym. Dodatkowo, podjęła ambitne zadanie wnikliwej oceny udziału regulacji cholinergicznej, adrenergicznej i niecholinergicznej/nieadrenergicznej w mechanizmie rozkurczowego działania BPA w macicy świń. Badania obejmowały określenie wpływu BPA i jego wybranych analogów (BPF, BPAF i BPS) na aktywność skurczową macicy loszek niedojrzałych płciowo, cyklicznych i we wczesnej ciąży oraz określenie wpływu wybranych agonistów i antagonistów układu autonomicznego na rozkurczowe działanie BPA w macicy świni pobranej w fazie lutealnej cyklu rujowego.

Rozprawa doktorska składa się z 3 publikacji, oryginalnych prac badawczych, które powstały w latach 2022-2025 o łącznym IF równym 3, z punktacją wynoszącą 380 pkt. Dwie publikacje zawierają 4 autorów, natomiast trzecia praca jest dziełem 3 autorów. Stosowane oświadczenia współautorów znajdują się w dokumentacji przewodu doktorskiego. Publikacje zostały poddane już wnikliwej ocenie ekspertów oraz przeszły pozytywną weryfikacje merytoryczną, co jest gwarancją ich wysokiego poziomu naukowego oraz rzetelności prowadzonych badań.

W pierwszej publikacji: *Zygmuntowicz A., Markiewicz W., Grabowski T., Jaroszewski J. Effects of bisphenol A and bisphenol F on porcine uterus contractility. Journal of Veterinary Research 2022, 66: 257-265. DOI:10.2478/jvetres-2022-0031. IF: 1,3; Pkt. MEiN: 140.00,*

Doktorantka przedstawiła wpływ najczęściej stosowanego bisfenolu A (BPA) oraz wybranego analogu, bisfenolu F (BPF), na aktywność skurczową macicy świń w bardzo szerokim zakresie stężeń (10^{-13}–10^{-1} M), co jest odpowiednie dla oceny efektów zarówno przy niskich, środowiskowo istotnych dawkach, jak i wyższych, do uzyskania pełnego spektrum działania. Doktorantka wykazała, znaczący spadek amplitudy skurczów, częstotliwości skurczów oraz napięcia myometrium we wszystkich badanych grupach pod wpływem działanie BPA. Jest to kluczowy wynik, wskazujący na ogólne rozkurczowe działanie BPA. BPF spowodował spadek amplitudy i częstotliwości skurczów we wszystkich grupach, a także spadek napięcia w grupie zwierząt ciężarnych. Doktorantka wykazała że zarówno BPA, jak i BPF wpływały istotnie na czynność skurczową macicy.

W drugiej publikacji *Łukawska A., Markiewicz W., Grabowski T., Jaroszewski J. Effects of bisphenol AF and bisphenol S on the contractility of the porcine uterus. Journal of Elementology 2023, 28(4): 1115-1128. DOI:10.5601/jelem.2023.28.3.3126. IF: 0,7; Pkt. MEiN: 140.00,* Doktoranta rozszerzyła badania o określenie wpływu kolejnych analogów BPA czyli BPAF i BPS na aktywność skurczową macicy pobranej od loszek niedojrzałych płciowo, cyklicznych i we wczesnej ciąży. Wskazanie braku danych w literaturze dotyczących wpływu badanych analogów BPA, tj. BPAF i BPS, na czynność skurczową macicy jest mocnym uzasadnieniem dla podjęcia niniejszych badań. Badania te skutecznie wypełniają zidentyfikowaną lukę w wiedzy, dostarczając cennych danych o wpływie BPAF i BPS na myometrium macicy świń. Doktoranta w tej pracy wykazała największe zmiany w macicy niedojrzałych świń pod wpływem działania BPAF. Jest to ważny wynik wskazujący na ogólne rozkurczowe działanie BPAF, z potencjalnie większą wrażliwością niedojrzałej macicy. BPS natomiast spowodował największy spadek napięcia i amplitudy skurczów u ciężarnych loszek oraz częstotliwości skurczów macicy zwierząt niedojrzałych. Uzyskane wyniki sugerują, że BPS wykazuje nieco odmienny profil działania w zależności od parametru skurczowego i stanu fizjologicznego macicy.

Uwzględnienie w badaniach opisanych zarówno w pracy 1 jaki i 2, trzech różnych faz fizjologicznych zwierząt jest dużą zaletą i pozwala na głębszą analizę mechanizmów. Użycie szerokiego zakresu stężeń bisfenoli pozwala na identyfikację zarówno subtelnych, jak i bardziej wyraźnych efektów. Badania dostarczają cennych danych porównawczych między BPA, a jego analogami: BPF, BPAF oraz BPS, co jest ważne w kontekście poszukiwania bezpieczniejszych zamienników.

Trzecia publikacja: *Łukawska A., Markiewicz W., Jaroszewski J. The influence of the autonomic nervous system on the relaxant action of BPA in the porcine myometrium. Polish Journal of Veterinary Research 2025, IF: 1; Pkt. MNiSW: 100.00*, podejmuje próbę wyjaśnienia złożonego mechanizmu działania bisfenolu A (BPA) na aktywność skurczową macicy u loch w cyklu rujowym. Badanie charakteryzuje się kompleksowym podejściem do tematu, analizując zaangażowanie wielu szlaków i systemów regulacji. Artykuł stanowi cenną pracę naukową, która wnosi nowe dane do zrozumienia złożonego działania BPA na mięśniówkę gładką macicy świń. Autorzy wykonali rzetelną pracę, stosując adekwatną metodykę. Wyniki jasno wskazują na wieloczynnikowy charakter działania BPA, co jest kluczowe dla dalszych badań nad jego toksycznością.

Polskojęzyczny komentarz który stanowi obszerną część prezentowanego zagadnienia badawczego które podjęła Doktorantka, liczy 65 stron i zawiera 90 starannie dobranych pozycji literaturowych. Tak więc w swojej ocenia odniosę się również do tej części.

We „Wstępie" do opisanych badań, Doktorantka dokonała kompleksowego i szczegółowego przeglądu literatury dotyczącej bisfenoli, ze szczególnym uwzględnieniem Bisfenolu A (BPA) oraz jego analogów. Opisano kluczowe aspekty, takie jak budowa chemiczna, właściwości fizykochemiczne, zastosowanie w przemyśle oraz w produktach codziennego użytku, główne drogi narażenia, a także negatywny/toksyczny wpływ na zdrowie. Na podstawie dostępnych badań, popartych licznymi odniesieniami do badań *in vivo* i *in vitro*, na różnych gatunkach zwierząt, Doktorantka podkreśliła negatywny wpływ analogów BPA na układ rozrodczy poprzez działanie na układ hormonalny, cykl płciowy czy zmiany w jajnikach i macicy. Choć, wskazane byłoby zwięzłe podsumowanie porównawcze toksyczności i siły działania analogów, co mogłoby ułatwić czytelnikowi ocenę, czy i w jakim stopniu substytucja może prowadzić do zmniejszenia ryzyka.

Doktorantka podkreśliła brak doniesień w dostępnej literaturze oceniających wpływ BPA i jego analogów na kurczliwość macicy świni domowej jako organizmu modelowego, jak również mechanizmu rozkurczowego działania BPA. W związku z powyższym w sposób klarowny sformułowała poprawnie dwa cele badawcze główne i cele badawcze szczegółowe.

Opis badań w rozdziale „Materiał i metody" jest szczegółowy i wyczerpujący. W przypadku rozpraw doktorskich, których podstawę stanowi zbiór tematycznie powiązanych publikacji, ze względu na ograniczenia redakcyjne poszczególnych artykułów naukowych, opis metodologii bywa często zawężony jedynie do działań pozwalających na odtworzenie toku eksperymentu. W części polskojęzycznej, doktoranta przedstawiła metodologię w sposób

precyzyjny i gruntowny, zachowując jednocześnie zwięzłość przekazu i potwierdzając doskonałą znajomość stosowanej metodologii oraz samodzielność wykonanych badań. Przedstawione zostały szczegółowe informacje dotyczące zwierząt doświadczalnych, przygotowania materiału badawczego (skrawków macicy) oraz zastosowanych odczynników. Istotne jest profesjonalne i adekwatne opisanie procedury rejestracji aktywności skurczowej macicy *in vitro*, w tym warunków pomiarów.

Kluczowe wyniki przeprowadzonych badań zostały opisane w publikacjach źródłowych nr 1-3 zbioru tematycznego. Jednak Doktorantka w sekcji „Wyniki" dokonała ich syntetycznego zestawienia i omówienia, ilustrując przy pomocy czytelnych i przejrzystych tabel oraz rycin, co istotnie poprawia klarowność informacji oraz czyni prezentowane treści bardziej przyswajalnymi.

W „Dyskusji" zarówno w części autoreferatu, jak i publikacji naukowych stanowiących cykl rozprawy doktorskiej, Doktorantka umiejętnie odniosła wyniki badań własnych do wyników opublikowanych przez innych autorów. Wyniki dotyczące BPA zostały skrupulatnie porównane z dostępną literaturą u innych gatunków zwierząt (m.in. koty, szczury, myszy), co prowadzi do kluczowego wniosku, że wrażliwość na BPA jest również zależna w dużym stopniu od gatunku.

Opracowanie zostało podsumowane 4 trafnymi wnioskami, które odzwierciedlają wyniki uzyskanych badań. We wnioskach zostały zawarte tylko istotne obserwacje, które stanowią również doskonały punkt wyjściowy do dalszych badań, szczególnie na modelach *in vivo*.

W mojej ocenia Doktorantka w swoich badaniach uzyskała wiele cennych obserwacji oraz wykazała liczne istotne zależności. Doktorantka przedstawiła, że BPA znacząco osłabia aktywność skurczową macicy we wszystkich badanych grupach zwierząt, choć z różnym nasileniem. Natomiast analogi wykazywały bardziej zróżnicowane i selektywne działanie. Wykazano, że rozkurczowe działanie BPA jest efektem złożonej interakcji wielu równoległych mechanizmów.

Pragnę podkreślić wyraźnie nowatorski charakter badań – pierwsze badania na macicy świń w różnym stanie fizjologicznym oraz pierwsze dotyczące mechanizmu w kontekście układu autonomicznego u świń. Doktorantka wskazała na różnice w sile działania między bisfenolami, co stanowi ważne nowe informacje, zwłaszcza w kontekście braku danych literaturowych dla BPF, BPAF i BPS w tym obszarze. Podjęto ambitną próbę określenia mechanizmu działania BPA, badając wpływ kluczowych szlaków (cholinergiczny, adrenergiczny, nitrergiczny). Wyciągnięto istotny wniosek, że mechanizm nitrergiczny (z wyłączeniem szlaku cyklazy guanylowej) jest zaangażowany w rozkurczowe działanie BPA i

wydaje się odgrywać kluczową rolę, podczas gdy regulacja cholinergiczna i adrenergiczna tylko nieznacznie modyfikuje rozkurczowe działanie BPA. Szeroki zakres stężeń i ich wpływ na konkretne parametry (amplituda, częstotliwość, napięcie) w różnych grupach zwierząt, świadczą o rzetelności i wysokiej precyzji przeprowadzonych badań oraz uzyskanych wyników.

Wszystkie procedury dotyczące zastosowanej metodologii – od przygotowania materiału badawczego, przez opis odczynników, po metody obliczeń farmakodynamicznych oraz skrupulatnej analizy statystycznej są wystarczająco precyzyjne, aby umożliwić odtworzenie badań. Świadczy to o wysokim poziomie warsztatu metodycznego Doktorantki.

Z obowiązku recenzenta proszę o ustosunkowanie się do poniższych pytań:

- W świetle coraz częstszego stosowania bisfenoli F, AF i S jako substytutów BPA w produktach konsumenckich, a także wykazania w badaniach ich negatywnego wpływu na zdrowie (w tym na układ rozrodczy), pojawia się pytanie jakie są obecnie regulacje prawne (w Unii Europejskiej lub globalnie) dotyczące limitów migracji lub całkowitego zakazu stosowania BPF, BPAF i BPS w materiałach mających kontakt z żywnością, w porównaniu do regulacji obowiązujących dla BPA? Tekst pracy koncentruje się na dowodach naukowych o szkodliwości, ale nie odnosi się do kwestii prawnych. Regulacje są kluczowe w przełożeniu wiedzy naukowej na praktyczną ochronę zdrowia publicznego, a substytucja BPA na inne bisfenole jest istotna z perspektywy konsumenta i organów regulacyjnych.
- Choć wskazano na różnice w sile działania analogów BPA, czy zastanawiano się nad podjęciem próby wyjaśnienia mechanizmów stojących za działaniem BPF, BPAF i BPS?
- Doktorantka wskazuje na liczne rozbieżności między badaniami własnymi a literaturą. Choć wspomniano o różnicach w układzie doświadczalnym (gatunek, tkanka, stan fizjologiczny), wskazana byłaby głębsza spekulacja nad tym, co te różnice w mechanizmach fizjologicznych macicy świni (w porównaniu do szczura czy kota) oznaczają dla translacji wyników.
- Czym kierowano się w doborze stężeń poszczególnych bisfenoli do badań? Ponadto, proszę o odniesienie się do aktualnych danych dotyczących stopnia migracji bisfenolu A z opakowań plastikowych i wewnętrznych powłok puszek do żywności, ze szczególnym uwzględnieniem typowych stężeń wykrywanych w różnych kategoriach produktów spożywczych (np. żywność puszkowana, napoje), co z punktu widzenia narażenia ludzi na bisfenole z żywności wydaje się dość istotne.

Podsumowując, prezentowanie badania dotyczą istotnego problemu zdrowia publicznego i środowiskowego, jakim jest wpływ bisfenoli na reprodukcję. Jest to cenny wkład w literaturę dotyczącą działania substancji zaburzających gospodarkę hormonalną. Niniejsze badania stanowią istotny wkład w rozwój toksykologii eksperymentalnej i medycyny translacyjnej. Badania nad oddziaływaniem bisfenoli, z punktu widzenia narażenia na te substancje i konsekwencji zdrowotne dla zwierząt i ludzi, są niezwykle istotne i wartościowe dla nauki.

Przedstawioną do recenzji pracę doktorską cechuje wysoka wartość naukowa i poznawcza, stanowiąc oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Postawione przez Doktorantkę cele naukowe i uzasadnienie do podjęcia badań są przekonywujące i dobrze przemyślane, jednoznacznie wskazując na oryginalność przyjętego podejścia oraz praktyczną wartość wyników w kontekście oceny bezpieczeństwa BPA i jego analogów.

Przeprowadzone przez doktorantkę badania mają kluczowe znaczenie w kontekście dążenia do pełniejszego zrozumienia wpływu BPA oraz jego analogów, skutecznie wypełniając zidentyfikowaną lukę badawczą. Doktorantka potwierdziła gruntowną wiedzę teoretyczną w zakresie prowadzonych badań oraz zdolność do samodzielnej pracy naukowej.

W związku z powyższym, jednoznacznie stwierdzam że recenzowana przez mnie rozprawa doktorska Pani mgr inż. Aleksandry Łukawskiej pt." *Wpływ bisfenolu A i jego wybranych analogów (bisfenolu F, AF i S) na aktywność skurczową macicy świni*" , odpowiada warunkom określonym w art. 187 ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Praw o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024, poza. 1571, z późniejszymi zmianami) i przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Weterynaria UWM w Olsztynie wniosek o dopuszczenie pani mgr inż. Aleksandry Łukawskiej do publicznej obrony recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Jednocześnie, uwzględniając oryginalność oraz nowatorski charakter badań, rekomenduje wyróżnienie tej pracy stosowną nagrodą.

Anna Gajda