Prof. dr hab. Ewa Tomaszewska
Katedra Fizjologii Zwierząt
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin, 23.10.2025 r.

Recenzja
rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Aleksandry Łukawskiej pt.:
„Wpływ bisfenolu A i jego wybranych analogów (bisfenolu F, AF i S) na aktywność skurczową macicy świni"

wykonanej w Katedrze Farmakologii i Toksykologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem Promotora Pana dr hab. Włodzimierz Markiewicz, prof. UWM oraz Promotora pomocniczego Pani dr Agnieszki Jasieckiej-Mikołajczyk.

Podstawą formalną wykonania recenzji jest uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 26.09.2025r. (WMW-Dz.5201.2.2023)

Bisfenole stanowią grupę związków chemicznych powszechnie stosowanych w przemyśle tworzyw sztucznych. W ostatnich dekadach narasta świadomość ich szkodliwego wpływu na zdrowie ludzi i zwierząt. Szczególne znaczenie ma bisfenol A (BPA), którego działanie estrogennopodobne wiąże się z zaburzeniami układu rozrodczego, zaburzeniami metabolicznymi i zwiększonym ryzykiem chorób nowotworowych. W odpowiedzi na ograniczenia stosowania BPA wprowadzono jego analogi (BPF, BPAF i BPS), jednak ich bezpieczeństwo nie zostało dostatecznie zbadane.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Aleksandry Łukawskiej została opracowana zgodnie z wytycznymi Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 20 lipca 2018r. z późniejszymi zmianami. Rozprawa została opracowana bardzo starannie pod względem merytorycznym i formalnym. Układ pracy jest przejrzysty, logiczny i zgodny z wymogami stawianymi dysertacjom doktorskim. Język jest poprawny, precyzyjny i naukowo adekwatny, a styl wypowiedzi świadczy o dużej kulturze językowej Autorki. Praca charakteryzuje się estetyczną szatą graficzną, właściwym formatowaniem tabel i rycin oraz konsekwentnym sposobem cytowania źródeł. Piśmiennictwo jest dobrane trafnie, aktualne i szerokie, obejmuje publikacje z uznanych czasopism naukowych. Całość świadczy o wysokiej jakości opracowania i dużej dbałości o szczegóły formalne.

Praca składa się z dwóch części. Część pierwszą stanowi autoreferat napisany w języku polskim i przedstawiony w postaci wydruku komputerowego na 68 stronach formatu A4, który zawiera 14 rycin, 6 tabel i 90 pozycji piśmiennictwa, w większości anglojęzycznego. Autoreferat w pełni odpowiada treści rozprawy. Został opracowany w sposób zwięzły, logiczny i przejrzysty, zawiera wszystkie wymagane elementy: streszczenie w języku polskim i angielskim, uzasadnienie wyboru tematu, opis zastosowanych metod, wyniki, wnioski oraz wykaz publikacji stanowiących podstawę dysertacji. Dokument ten wiernie odzwierciedla główne założenia i rezultaty pracy doktorskiej, pozwalając na szybkie zapoznanie się z jej zakresem i osiągnięciami. Szata graficzna jest staranna i estetyczna. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że rozprawa powstała w oparciu o trzy oryginalne publikacje opublikowane w renomowanych czasopismach z punktacją MEiN łączną 380 i IF 3, które stanowią silne potwierdzenie wartości naukowej dysertacji, znaczenia i aktualności tego tematu w obecnym czasie.

Cykl trzech prac, tematycznie spójnych, oryginalnych artykułów naukowych jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego i powstał w latach 2022-2025:

1. 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
2. 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

3. 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

We „Wstępie" obejmującym 13 stron Doktorantka przygotowała wnikliwy i obszerny przegląd literatury dotyczącej BPA i jego wybranych analogów. W pierwszej części przedstawiła charakterystykę fizykochemiczną tych związków, wskazując na podobieństwa strukturalne oraz różnice, które mogą determinować ich aktywność biologiczną. Bardzo dokładnie opisała również zastosowanie bisfenoli w przemyśle, szczególnie w produkcji tworzyw poliwęglanowych i żywic epoksydowych, a także w licznych produktach codziennego użytku. Wskazała na drogi narażenia ludzi i zwierząt na te związki, akcentując znaczenie migracji BPA i jego analogów z opakowań do żywności, możliwość wchłaniania przez skórę z papieru termicznego czy wdychanie wraz z kurzem domowym.

Szeroko udokumentowana została problematyka toksycznego wpływu bisfenoli na zdrowie. Doktorantka przedstawiła ich działanie jako ksenoestrogenów zaburzających gospodarkę hormonalną poprzez interakcję z receptorami estrogenowymi, androgenowymi i innymi receptorami steroidowymi. Przytoczyła dane wskazujące na związek BPA z otyłością, cukrzycą, nadciśnieniem tętniczym oraz zwiększonym ryzykiem chorób nowotworowych. Dużo miejsca poświęciła wpływowi BPA na układ rozrodczy samic, zarówno na jajniki, jak i na macicę, cytując wyniki badań *in vivo* i *in vitro* u różnych gatunków zwierząt oraz u ludzi. Wskazała między innymi na zaburzenia folikulogenezy, zmiany w strukturze endometrium, a także na niekorzystny wpływ na implantację zarodka.

W dalszej części wstępu Doktorantka szczegółowo omówiła analogi BPA, podkreślając, że choć wprowadza się je jako potencjalnie bezpieczniejsze zamienniki, to dostępne badania coraz częściej wskazują na ich własne działanie toksyczne, gdyż mogą podobnie jak BPA zaburzać funkcjonowanie układu hormonalnego, wpływać na cykl płciowy oraz wywoływać zmiany morfologiczne w jajnikach i macicy. Zebrane dane wyraźnie pokazują, że brak jest jednoznacznych dowodów na bezpieczeństwo tych substancji, co dodatkowo uzasadnia potrzebę prowadzenia dalszych badań.

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka zwróciła uwagę na ograniczenia dotychczasowych prac. Wskazała, że większość badań dotyczyła gryzoni, natomiast niewiele jest danych dotyczących świń, gatunku o dużym znaczeniu translacyjnym ze względu na podobieństwa anatomiczne i fizjologiczne do człowieka. Ta luka badawcza stała się punktem wyjścia do zaplanowanych badań własnych.

Podsumowując, Wstęp został przygotowany bardzo starannie. Jest logicznie ułożony, dobrze udokumentowany, oparty na bogatej i aktualnej literaturze, w tym wielu publikacjach zagranicznych z ostatnich lat. Autorka trafnie przedstawiła stan wiedzy, wskazała na istniejące luki i w pełni uzasadniła cel podjętych badań.

W rozdziale „Cele naukowe i uzasadnienie badań" obejmującym 1 stronę Doktorantka w sposób klarowny i precyzyjny zaprezentowała cele rozprawy. Głównym celem badań było określenie wpływu BPA oraz jego wybranych analogów na czynność skurczową mięśniówki gładkiej macicy świń, przy czym szczególną uwagę poświęciła różnicom wynikającym ze stanu fizjologicznego zwierząt (loszki niedojrzałe płciowo, cykliczne oraz we wczesnej ciąży). Takie podejście badawcze ma duże znaczenie, ponieważ pozwala na ocenę potencjalnego ryzyka oddziaływania tych substancji w różnych okresach aktywności hormonalnej, co odzwierciedla zróżnicowane warunki występujące zarówno w fizjologii zwierząt, jak i u ludzi.

Drugim istotnym celem pracy było wyjaśnienie mechanizmu działania BPA na mięsień macicy z uwzględnieniem udziału układu autonomicznego. Doktorantka założyła, że relaksacyjne działanie BPA może być modulowane przez szlaki cholinergiczne, adrenergiczne oraz niecholinergiczne/nieadrenergiczne, co zostało zweryfikowane w zaplanowanych eksperymentach z użyciem specyficznych agonistów i antagonistów receptorów.

Cele badań zostały sformułowane w sposób spójny, logiczny i zgodny z przedstawionym we Wstępie uzasadnieniem. Mają charakter oryginalny, gdyż w dotychczasowej literaturze brakuje danych

dotyczących wpływu bisfenoli na aktywność skurczową macicy świń, zwłaszcza z uwzględnieniem statusu hormonalnego zwierząt i mechanizmów leżących u podstaw obserwowanego działania. Z tego względu podjęta problematyka wypełnia istotną lukę badawczą i wnosi wartościowy wkład do toksykologii doświadczalnej oraz medycyny translacyjnej. Cele naukowe i uzasadnienie badań zostały przedstawione w sposób rzetelny i przemyślany. Wyraźnie wskazują na nowatorstwo podejścia, a także na praktyczne znaczenie uzyskanych wyników dla oceny bezpieczeństwa BFA i jego zamienników.

W rozdziale „Cele naukowe i uzasadnienie badań" Doktorantka nie podała wprost hipotezy badawczej, nie ma tam osobnego punktu z hipotezą, jak to bywa w niektórych dysertacjach.

Treść sugeruje jednak wyraźne założenia badawcze, które można potraktować jako hipotezy:

1.BFA i jego analogi wpływają na aktywność skurczową mięśniówki gładkiej macicy świń w sposób zależny od statusu hormonalnego zwierząt,

2.BPA wywiera działanie rozkurczowe poprzez mechanizmy związane z układem autonomicznym (szlaki cholinergiczne, adrenergiczne oraz niecholinergiczne/nieadrenergiczne).

Można więc powiedzieć, że hipotezy są obecne w sensie merytorycznym, ale nie zostały sformułowane jako odrębny, jednoznaczny punkt w strukturze pracy.

W kolejnym rozdziale „Materiał i metody" Doktorantka zaprezentowała opis badań w sposób bardzo staranny i kompletny. W pierwszej części przedstawiła szczegółowe informacje dotyczące zwierząt doświadczalnych: loszek w różnym stanie fizjologicznym (niedojrzałych płciowo, cyklicznych oraz we wczesnej ciąży). Precyzyjnie określiła kryteria doboru zwierząt, warunki utrzymania oraz sposób postępowania przed pobraniem narządów, co pozwala ocenić, że badania zostały przeprowadzone w sposób etyczny i zgodny ze standardami obowiązującymi w eksperymentach na zwierzętach. Dalsza część rozdziału zawiera szczegółowy opis przygotowania skrawków macicy oraz zastosowanych odczynników. Doktorantka bardzo dokładnie opisała procedurę rejestracji aktywności skurczowej mięśniówki gładkiej, w tym warunki prowadzenia doświadczeń *in vitro*, a także parametry pomiarów. Uwzględniła także eksperymenty mające na celu wyjaśnienie mechanizmu działania BPA poprzez zastosowanie odpowiednich agonistów i antagonistów receptorów układu autonomicznego, co pozwoliło na analizę złożonych zależności farmakodynamicznych. Na uwagę zasługuje również przejrzysty opis procedur obliczania parametrów farmakodynamicznych oraz zastosowane metody analizy statystycznej. Dobór metodologii należy uznać za w pełni adekwatny i profesjonalny. Opisy są wystarczająco precyzyjne, aby umożliwić powtórzenie badań w innych ośrodkach naukowych, co świadczy o wysokim poziomie warsztatu metodycznego Doktorantki.

Rozdział „Wyniki" obejmuje prezentację uzyskanych danych w sposób przejrzysty i logiczny. Doktorantka podzieliła go na podrozdziały odpowiadające kolejnym etapom eksperymentów, co ułatwia odbiór i pozwala na systematyczną analizę wpływu poszczególnych bisfenoli na aktywność skurczową mięśniówki macicy świń. Wyniki zostały zobrazowane przy pomocy licznych tabel i rycin, a opis tekstowy dobrze uzupełnia dane liczbowe i statystyczne. Interpretacja wyników jest poprawna.

Na szczególne podkreślenie zasługują obserwacje dotyczące BFA. Doktorantka wykazała, że BPA istotnie obniża amplitudę i częstotliwość skurczów oraz napięcie podstawowe mięśnia macicy we wszystkich grupach badanych zwierząt. Efekt ten był konsekwentny, niezależnie od statusu hormonalnego, choć jego nasilenie różniło się między grupami. Podobne działanie, choć w nieco odmiennym zakresie, wykazywały analogi BPA. BPF powodował zmniejszenie amplitudy i częstotliwości skurczów we wszystkich grupach oraz obniżenie napięcia w grupie zwierząt ciężarnych. BPAF okazał się związkiem o najsilniejszym działaniu rozkurczowym, ze szczególnie wyraźnym efektem w macicy niedojrzałych świń. BPS natomiast wykazywał działanie zależne od stanu fizjologicznego, największe obniżenie napięcia i amplitudy skurczów obserwowano w grupie zwierząt ciężarnych, natomiast spadek częstotliwości dotyczył głównie macicy zwierząt niedojrzałych.

Drugą część wyników stanowi analiza mechanizmów działania BPA. Doktorantka wnikliwie przebadała rolę układu autonomicznego poprzez zastosowanie agonistów i antagonistów receptorów

cholinergicznych i adrenergicznych, a także inhibitorów szlaków zależnych od tlenku azotu. Uzyskane wyniki wykazały, że działanie relaksacyjne BPA nie wynika z pojedynczego mechanizmu, lecz stanowi efekt nakładania się kilku równoległych szlaków. Stwierdzono między innymi istotne zmniejszenie amplitudy i częstotliwości skurczów po inkubacji m.in. z acetylocholiną, atropiną, epinefryną, fentolaminą, bupranololem. Wyniki te jednoznacznie wskazują, że BPA działa poprzez modulację receptorów cholinergicznych, adrenergicznych, a także przez mechanizmy związane z układem NO. Uzyskane rezultaty mają wysoką w artość poznawczą, a dodatkowo stanowią punkt wyjścia do dyskusji o potencjalnym wpływie bisfenoli na płodność i funkcjonowanie układu rozrodczego zwierząt i ludzi.

Uzyskane wyniki posiadają wysoką wartość naukową, gdyż wnoszą oryginalne i nowatorskie informacje dotyczące wpływu bisfenolu A oraz jego analogów na czynność skurczową macicy świń. Doktorantka nie tylko potwierdziła rozkurczowe działanie BPA, ale również wykazała zróżnicowany charakter odpowiedzi tkanki w zależności od stanu fizjologicznego zwierząt, co dotychczas nie było szerzej analizowane. Wartość poznawcza pracy wynika również z kompleksowego ujęcia mechanizmów działania BPA, obejmującego udział szlaków cholinergicznych, adrenergicznych i tlenku azotu. Takie podejście poszerza wiedzę z zakresu toksykologii doświadczalnej i farmakologii układu rozrodczego.

Równocześnie rozprawa ma istotną wartość praktyczną. Uzyskane dane mogą stanowić podstawę do dalszych badań nad wpływem ksenoestrogenów na płodność samic zwierząt gospodarskich oraz do oceny ryzyka ekspozycji na bisfenole w środowisku hodowlanym i u ludzi. Wyniki pracy mogą być przydatne w toksykologii środowiskowej, farmakologii weterynaryjnej oraz w ocenie bezpieczeństwa substancji stosowanych w przemyśle chemicznym i paszowym.

Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka sformułowała 4 wnioski końcowe ściśle dotyczące postawionych przez siebie celów badawczych, które przedstawiła po „Dyskusji".

1. Wszystkie badane bisfenole (BPA, BPF, BPAF i BPS) wykazują działanie rozkurczowe w macicy świń niedojrzałych płciowo, cyklicznych i we wczesnej ciąży, co może przyczyniać się do zaburzeń funkcjonowania tego narządu.
2. Regulacja cholinergiczna i adrenergiczna tylko nieznacznie modyfikuje rozkurczowe działanie BPA.
3. Mechanizm nitrergiczny wydaje się odgrywać kluczową rolę w rozkurczowym działaniu BPA, ale z wyłączeniem szlaku cyklazy guanylowej.
4. Mechanizm rozkurczowego działania BPA pozostaje nie w pełni poznany i prawdopodobnie jest wypadkową jego oddziaływania na wielu procesów odpowiedzialnych za regulację neurohormonalną w układzie rozrodczym.

Rozdział „Podsumowanie uzyskanych wyników" został opracowany na wysokim poziomie merytorycznym i obejmuje 6 stron wnikliwej analizy wyników własnych w odniesieniu do dostępnych danych literaturowych. Doktorantka konsekwentnie odnosi się do poszczególnych celów pracy, zestawiając swoje obserwacje z wynikami innych autorów i wskazując zarówno na podobieństwa, jak i różnice.

W części poświęconej BFA Doktorantka wykazała, że otrzymane wyniki potwierdzają jego działanie rozkurczowe na mięsień macicy, co jest zgodne z obserwacjami innych badaczy, m.in. u szczurów i myszy. Jednocześnie zauważyła, że siła efektu była zależna od statusu hormonalnego świń, co stanowi nowatorski aspekt badań i wskazuje na złożone interakcje między ksenoestrogenami a fizjologią układu rozrodczego. Dyskusja zawiera wartościowe spostrzeżenie, że odmienne nasilenie działania BPA u zwierząt niedojrzałych, cyklicznych i ciężarnych może wynikać ze zmiennej ekspresji receptorów steroidowych oraz odmiennych mechanizmów regulacji skurczów macicy w poszczególnych fazach aktywności hormonalnej.

Omówienie wyników dotyczących analogów BPA (BPF, BPAF i BPS) jest obszerne i wskazuje na ich potencjalnie nie mniejsze zagrożenie niż w przypadku BPA. Doktorantka podkreśliła, że BPF i BPS, często przedstawiane jako bezpieczniejsze zamienniki, wykazują również istotne działanie zaburzające fizjologię macicy, a w przypadku BPAF obserwowano nawet silniejszy efekt niż przy BPA. Jest to niezwykle ważna konkluzja w kontekście bezpieczeństwa stosowania tych substancji w przemyśle i ich

obecności w środowisku. Szczególnie wartościowa jest część poświęcona analizie mechanizmów działania BPA. Doktorantka przedstawiła wyniki badań z użyciem agonistów i antagonistów receptorów układu autonomicznego oraz inhibitorów szlaku NO, interpretując je jako dowód na wieloczynnikowe działanie BPA obejmujące równoległą modulację kilku układów regulacyjnych. Dyskusja w tym zakresie wskazuje na dużą znajomość literatury farmakologicznej i umiejętność krytycznego zestawiania własnych wyników z danymi innych zespołów badawczych. Należy docenić, że Autorka wskazała również ograniczenia swoich badań, m.in. wynikające z eksperymentów prowadzonych *in vitro*, które nie zawsze w pełni odzwierciedlają złożone mechanizmy zachodzące *in vivo*. Zaznaczyła także, że uzyskane wyniki, choć istotne poznawczo, wymagają dalszej weryfikacji w badaniach na modelach *in vivo* oraz w analizach translacyjnych. Rozdział ten stanowi mocną stronę rozprawy i potwierdza samodzielność naukową Doktorantki.

Rozdział „Piśmiennictwo" został przygotowany starannie i obejmuje 90 pozycji literatury, w zdecydowanej większości pochodzących z ostatnich kilkunastu lat. Wśród cytowanych źródeł dominują publikacje anglojęzyczne z czasopism o uznanej renomie, co świadczy o bardzo dobrej orientacji Doktorantki w aktualnym stanie wiedzy dotyczącej bisfenoli i ich analogów. Piśmiennictwo obejmuje szeroki zakres badań z dziedziny toksykologii, farmakologii, endokrynologii i medycyny translacyjnej. Uwzględniono zarówno prace eksperymentalne *in vivo* i *in vitro*, jak i doniesienia epidemiologiczne oraz opracowania przeglądowe. W literaturze znajdują się odniesienia do badań dotyczących działania BFA na układ rozrodczy (jajniki, macicę, implantację zarodka), jak również analiz dotyczących jego wpływu na inne układy organizmu (metaboliczny, sercowo-naczyniowy, immunologiczny). Na uwagę zasługuje fakt, że Doktorantka korzystała z licznych źródeł z ostatnich 5–10 lat, co zapewnia aktualność przytaczanych danych i wskazuje, że praca była przygotowywana w oparciu o najnowsze wyniki badań. Jednocześnie w piśmiennictwie znalazły się także klasyczne prace z lat wcześniejszych, które stanowią podstawę wiedzy o bisfenolach i ich mechanizmach działania. Dobór literatury jest właściwy, szeroki i zrównoważony. Autorka konsekwentnie sięga po artykuły oryginalne, co dodatkowo wzmacnia wartość naukową dysertacji. „Piśmiennictwo" świadczy o dużej rzetelności i bardzo dobrej znajomości problematyki badawczej przez Doktorantkę. Stanowi ono solidne zaplecze merytoryczne zarówno dla części wstępnej, jak i dla dyskusji wyników.

Z treści rozprawy oraz sposobu jej opracowania wynika, że Doktorantka wykazała się dużą samodzielnością w prowadzeniu badań i analizie uzyskanych wyników. Zakres przeprowadzonych doświadczeń, umiejętność interpretacji danych oraz ich logiczne zestawienie świadczą o wysokim poziomie przygotowania merytorycznego. Autorka potrafiła właściwie dobrać metody badawcze, trafnie formułować wnioski i krytycznie odnieść się do literatury przedmiotu. Wszystko to potwierdza, że posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych oraz zdolność do dalszego rozwoju w pracy badawczej.

Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na drobne nieliczne niedopatrzenia:

1.W tekście można znaleźć nieliczne drobne błędy typograficzne i stylistyczne, np. brak konsekwencji w zapisie jednostek (stosowanie różnych formatów dla µg/kg, mg/kg m.c./dzień) czy skrótów chemicznych (np. oznaczenia receptorów i nazw substancji farmakologicznych). Nie wpływa to na odbiór merytoryczny.

2. Momentami dyskusja mogłaby być bardziej ukierunkowana na praktyczne implikacje kliniczne. Autorka akcentuje aspekt mechanistyczny, ale nieco mniej rozwija potencjalne znaczenie translacyjne wyników, np. dla zdrowia reprodukcyjnego świń w hodowli lub ryzyka zaburzeń płodności u ludzi.

3. W kilku miejscach opisy tabel i rycin mogłyby być bardziej jednoznaczne. Zdarza się, że odwołania do rycin są lakoniczne, przez co czytelnik nie od razu orientuje się, jakie parametry zostały zobrazowane.

Uwagi te mają jednak charakter drugorzędny i nie umniejszają wartości naukowej rozprawy.

Z obowiązku recenzenta pragnę również zadać kilka pytań:

1. Dlaczego jako model zwierzęcy została wybrana macica świni? Jakie są główne zalety i ograniczenia tego modelu w kontekście translacyjności wyników do ludzi?
2. W badaniach wykazano udział wielu szlaków (cholinergicznych, adrenergicznych, NO-zależnych) w działaniu BPA. Który z tych mechanizmów odgrywa kluczową rolę w wywoływaniu efektu rozkurczowego i dlaczego?
3. Jak można interpretować różnice w sile działania bisfenoli pomiędzy loszkami niedojrzałymi płciowo, cyklicznymi a ciężarnymi? Jakie mechanizmy endokrynne mogą leżeć u podstaw tych obserwacji?
4. Jakie są główne ograniczenia wynikające z prowadzenia badań *in vitro* na skrawkach macicy? Jakich różnic można się spodziewać w badaniach *in vivo*?
5. Jak uzyskane wyniki można przełożyć się na praktykę weterynaryjną lub hodowlaną? Czy można wskazać konkretne implikacje dla zdrowia reprodukcyjnego świń?
6. Jakie kierunki dalszych badań uważa Pani za najbardziej potrzebne, aby pełniej ocenić wpływ bisfenoli i ich analogów na układ rozrodczy?

Po dokładnym zapoznaniu się z pracą doktorską Pani mgr inż. Aleksandry Łukawskiej uważam, że Autorka pracy posiadła wymaganą znajomość warsztatu metodycznego, potrafi te umiejętności odpowiednio wykorzystać w pracy łącząc aktywność kliniczną z pracą badawczą, a otrzymane wyniki logicznie zinterpretować. Doktorantka bezspornie wykazała się wiedzą oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowo-badawczej. Uwagi nie umniejszają wartości naukowej dysertacji.

Równocześnie, w związku z wysoką oceną pracy, z przyjemnością stawiam wniosek o wyróżnienie recenzowanej dysertacji stosowną nagrodą ze względu na kilka kluczowych powodów:

Przedstawiona rozprawa doktorska jest nowatorska, gdyż podejmuje w sposób kompleksowy problematykę wpływu BFA i jego analogów na aktywność skurczową mięśniówki gładkiej macicy świń. Wyróżnia się ona nie tylko szerokim zakresem analiz obejmującym różne bisfenole, ale także uwzględnieniem statusu fizjologicznego zwierząt (niedojrzałe, cykliczne, ciężarne), co stanowi istotny krok w stronę badań translacyjnych i oddaje realne zróżnicowanie warunków biologicznych. Szczególnym walorem pracy jest równoległe badanie mechanizmów działania BPA, w tym udziału szlaków cholinergicznych, adrenergicznych i tlenku azotu, co pozwoliło na całościowe spojrzenie na relaksacyjny wpływ tego związku. Taka perspektywa wykracza poza proste stwierdzenie efektu i umożliwia głębsze zrozumienie farmakologicznych podstaw działania ksenoestrogenów.

Znaczenie pracy wynika z jej wkładu w rozwój toksykologii środowiskowej i weterynaryjnej. W dobie rosnącej ekspozycji na związki zaburzające gospodarkę hormonalną badania Doktorantki dostarczają mocnych dowodów, że również analogi BPA, często wprowadzane jako rzekomo bezpieczniejsze, wykazują istotne działanie biologiczne, mogące prowadzić do zaburzeń funkcji rozrodczych. Wskazanie na różnice w sile działania poszczególnych bisfenoli oraz zależność efektów od statusu hormonalnego świń ma duże znaczenie praktyczne, zarówno w kontekście zdrowia zwierząt gospodarskich, jak i ryzyka zdrowotnego u ludzi.

Z punktu widzenia teoretycznego rozprawa wnosi istotne elementy nowej wiedzy. Uzupełnia luki badawcze dotyczące mechanizmów działania BPA na macicę gatunku o dużym znaczeniu translacyjnym, jakim jest świnia, i pokazuje, że odpowiedź tkanki mięśniowej na ksenoestrogeny nie jest jednorodna, lecz wynika z nakładania się wielu współdziałających mechanizmów. Takie podejście pozwala lepiej rozumieć nie tylko działanie pojedynczych substancji, ale także złożone efekty środowiskowe związane z równoczesną ekspozycją na różne bisfenole.

Przedstawiona do oceny dysertacja łączy w sobie nowatorstwo, wysoki poziom warsztatu metodologicznego, bogaty dorobek publikacyjny i praktyczne znaczenie wyników. W mojej ocenie rozprawa

mgr inż. Aleksandry Łukawskiej spełnia wszystkie kryteria pracy wybitnej, a jej wartość naukowa i aplikacyjna uzasadnia wyróżnienie w ramach przewodu doktorskiego.

Spełnienie wymogów formalnych

Przedstawiona rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymogi formalne określone w obowiązujących przepisach, w tym w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. z 2022 r. poz. 574, z późn. zm.) oraz w odpowiednich aktach wykonawczych. Praca posiada właściwą strukturę, obejmuje streszczenia w dwóch językach, część wstępną, opis materiałów i metod, wyniki, dyskusję, wnioski oraz pełny wykaz piśmiennictwa. Dołączony autoreferat został opracowany zgodnie z wymogami formalnymi i merytorycznie odpowiada treści dysertacji. Układ pracy, sposób cytowania źródeł i kompletność materiału dowodzą, że wszystkie wymogi formalne przewidziane dla rozpraw doktorskich zostały spełnione.

Wniosek końcowy

Po szczegółowym zapoznaniu się z treścią rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Aleksandry Łukawskiej pt. *„**Wpływ bisfenolu A i jego wybranych analogów (bisfenolu F, AF i S) na aktywność skurczową macicy świni**”*, stwierdzam, że przedstawiona praca spełnia wszystkie kryteria określone dla rozpraw doktorskich, zarówno pod względem merytorycznym, jak i formalnym. Doktorantka wykazała się wysokim poziomem wiedzy, umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań oraz zdolnością interpretacji i krytycznej analizy uzyskanych wyników. Zatem przedstawiam Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. Aleksandry Łukawskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

