



dr hab. Teresa Radziejewska, prof. US
Instytut Nauk o Morzu i Środowisku
Uniwersytet Szczeciński
Ul. Mickiewicza 16a
70-383 Szczecin
teresa.radziejewska@usz.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Klaudii Świackiej
pt. Los środowiskowy i ocena toksyczności wybranych farmaceutyków i ich metabolitów z wykorzystaniem Mytilus trossulus jako gatunku modelowego / Environmental fate and toxicity evaluation of selected pharmaceuticals and their metabolites using Mytilus trossulus as a model species

Niniejsza recenzja ma na celu, zgodnie z art. 187. ust. 1 i 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668), stwierdzenie, czy rozprawa doktorska p. mgr Klaudii Świackiej, przygotowana pod opieką promotora, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydatki w Jej dyscyplinie naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia przez Nią pracy naukowej.

Moja ocena dysertacji dotyczyła następujących elementów:

- 1) wybór przedmiotu badań i tematu pracy,
- 2) cele i metody badawcze oraz struktura rozprawy pozwalające na ustosunkowanie się do umiejętności samodzielnego przygotowania dzieła naukowego,
- 3) wykazanie przez kandydatkę ogólnej wiedzy teoretycznej w dyscyplinie Nauki o Ziemi i środowisku,
- 4) oryginalność w rozwiązaniu problemu badawczego,
- 5) formalna strona pracy (struktura, styl pisania, poprawność cytowania literatury, przygotowanie ilustracji i dokumentacji tabelarycznej).

Do czytania rozprawy przystąpiłam z wielkim zainteresowaniem z uwagi na jej temat, gdyż sama obecność farmaceutyków i ich pozostałości w środowisku morskim i w organizmach morskich nie powinna nikogo pozostawić obojętnym. Wszyscy (prawie)

stykamy się bezpośrednio i czynnie z różnego rodzaju chemicznymi specyfikami medycznymi. Ich eliminacja, w postaci naturalnej – lub częściej przetworzonej – z naszych organizmów na zewnątrz przyczynia się do ich zatrzymywania i akumulacji w różnych elementach środowiska (woda, osady w zbiornikach wodnych) a w związku z tym do ekspozycji innych organizmów – dla których nie były oryginalnie przeznaczone a na które mogą oddziaływać negatywnie – na ich wpływ. To z kolei może wywoływać niekorzystne zmiany biochemiczne, fizjologiczne i strukturalne w tych organizmach pogarszając ich stan zdrowotny i możliwość przetrwania w środowisku, co może następnie rzutować na zdolność określonych akwenułów do świadczenia, we właściwy sposób, usług ekosystemowych. Postęp farmakologii sprawia, że wytwarza się i stosuje coraz więcej różnorodnych medykamentów, tymczasem ich losy po opuszczeniu – najczęściej w formie przetworzonej – organizmu, dla którego były przeznaczone niekoniecznie spotykają się z zainteresowaniem zarówno producentów, jak i konsumentów tych specyfików. W związku z tym i wiedza na ten temat, choć ciągle poszerzająca się, jest nadal fragmentaryczna. Dlatego też każdy wysiłek zmierzający do zmniejszenia stopnia i zakresu naszej niewiedzy w tej dziedzinie należy powitać z uznaniem a do takich wysiłków należy przedstawić mi do oceny rozprawa doktorska p. mgr Klaudii Świackiej. Z tego względu bardzo pozytywnie oceniam wybór przedmiotu badań przedstawionych w dysertacji (czyli pierwszy element mojej oceny).

Rozprawa oparta została na siedmiu publikacjach, przygotowanych przez zespoły badawcze ze znacznym udziałem Doktorantki, opublikowanych w prestiżowych międzynarodowych czasopismach naukowych. We wszystkich tych pracach Doktorantka jest pierwszą autorką, a w części z nich – również autorką-korespondentką. Ideą łączącą te publikacje jest dążenie do rozpoznania stopnia oddziaływania jednego z najbardziej popularnych i łatwo dostępnych leków, diklofenaku oraz jego pochodnych na środowisko morskie (woda morska i osad, w sensie koncentracji w nich) oraz na omułka *Mytilus trossulus* – gatunek, który z racji swego trybu życia może być w znacznym stopniu bezpośrednio eksponowany na kontakt z pozostałościami leku w środowisku. Zbiór wspomnianych 7 publikacji poprzedzony jest syntetycznym ich omówieniem w sposób formalnie przyjęty dla dysertacji, czyli z podziałem na poprzedzony streszczeniem (w języku polskim i – bardzo poprawnym! – angielskim) wstęp, przedstawienie celów pracy, opis zastosowanych metod, prezentację wyników i ich dyskusję, wnioski i spis wykorzystanego piśmiennictwa. Tak więc struktura pracy jest poprawna a publikacje, na których oparta została rozprawa, stanowią niejako załączniki do niej, będąc jednakże jej integralną częścią.

Jak już wspomniałam, siedem publikacji stanowiących podstawę przedstawionej przez p. mgr Klaudię Świacką dysertacji opublikowano w renomowanych międzynarodowych

czasopismach naukowych, co oznacza, że na temat ich treści, przygotowania merytorycznego i opracowania danych wypowiedzieli się kompetentni recenzenci. Nie widzę w związku z tym szczególnej potrzeby ponownej oceny tych publikacji (aczkolwiek mam do niektórych z nich pewne uwagi, o czym dalej). Mogę jedynie – i chcę – Doktorantce i współautorom Jej artykułów pogratulować ich opublikowania.

Uważam jednak, że jako recenzentka dysertacji powinnam odnieść się do tego, co postrzegam jako samodzielny wkład Doktorantki do pracy, to znaczy wprowadzenie do jej treści i synteza uzyskanych wyników.

Wprowadzenie zawarte jest w Rozdziale 1 (*Wstęp*), w którym Autorka przedstawia problematykę poruszaną w pracy. Omawiany rozdział napisany jest w sposób bardzo przejrzysty i precyzyjnie nakreśla tło badań, zwracając uwagę na zagadnienia nierozpoznane i wymagające zgłębienia. Przywołana została odpowiednia literatura, w tym publikacje stanowiące podstawę dysertacji. Autorka wykorzystała bardzo obszerne piśmiennictwo, jednakże kilka z cytowanych prac (np. Fent 2007, Fent i in. 2006) przeoczono w trakcie przygotowania spisu literatury i ich tam nie znajdziemy.

Autorka przedstawia następnie cele (Rozdział 2), jakie postawiła sobie przygotowując dysertację. Tutaj dyskusyjne wydaje mi się podanie – na pierwszym miejscu – „zebranie dostępnych danych literaturowych dotyczących zanieczyszczeń farmaceutycznych...”. Zebranie danych literaturowych jest niejako obowiązkiem i krokiem niezbędnym do rozpoczęcia badań i je poprzedzającym, ma przygotować grunt do sformułowania hipotez i pytań badawczych, ale nie może być samoistnym celem dysertacji. Owszem, może stanowić – i w przypadku Doktorantki stanowiło – podstawę przygotowania wartościowych artykułów przeglądowych, ale nadal jako baza dla samej pracy, samych badań.

Wymieniając cele szczegółowe Autorka powtórzyła zebranie danych literaturowych jako cele 3 i 5, co – powtarzam – nie jest właściwe. Niefortunne wydaje mi się też sformułowanie szczegółowego celu 1. Brzmi on tak, jakby Doktorantka zamierzała przetestować przydatność RÓŻNYCH gatunków do roli gatunku modelowego. Tymczasem, jak wynika zresztą z Publikacji 1 – od początku wiadomo było, że gatunkiem modelowym będzie przedstawiciel Mytilidae, czyli najłatwiej dostępny w Bałtyku *Mytilus trossulus*. Nie może być więc mowy o „wyznaczeniu” – jako celu pracy – gatunku modelowego, ponieważ ten został już ustalony *a priori*. Ogólnie rzecz biorąc uważam, że zamiast wyliczania celów szczegółowych właściwsze byłoby sformułowanie hipotez i pytań badawczych do nich. Nie byłoby to trudne, ponieważ Doktorantka dysponowała wystarczającą podstawą (z dokonanych przeglądów literatury) do takiego ujęcia procesu

badawczego. Truizmem jest chyba przypomnienie, że nauka idzie do przodu poprzez formułowanie hipotez i ich testowanie skutkujące ich falsyfikacją bądź przyjęciem.

Kolejnym elementem strukturalnym jest spis publikacji stanowiących podstawę dysertacji. Ten spis jest rzeczywiście imponujący, ilościowo i jakościowo (w sensie wysoko punktowanych czasopism) – tu znowu gratulacje dla Doktorantki i Jej współpracowników. Jednakże moim zdaniem dwie publikacje przeglądowe (Publikacja 2 i Publikacja 5) niekoniecznie muszą wchodzić w skład dysertacji. Owszem, ważne są dla CV autorów, ale nie prezentują bezpośrednio wyników ich badań, stanowią natomiast bardzo dobre omówienie międzynarodowego dorobku naukowego, na gruncie którego zrealizowano badania przedstawione w dysertacji.

Rozdział 3 opisujący materiał i metodykę pracy w sposób odpowiednio zwięzły przedstawia różnorodne metody zastosowane w przeprowadzeniu poszczególnych etapów badań. Bardziej szczegółowy opis nie jest tu potrzebny, ponieważ wszystkie odpowiednie szczegóły metodologiczne zamieszczone zostały w publikacjach opisujących poszczególne aspekty badań.

Wyniki swoich badań i ich omówienie przedstawiła Autorka w Rozdziale 4, w sposób syntetyczny, zwarty i wyczerpujący, odwołując się do odpowiednich publikacji z przygotowanego zestawu. Czytając ten rozdział zabrakło mi jednak odniesienia się Autorki do poszczególnych celów, jakie uprzednio sformułowała (pomijam to, że łatwiej byłoby odnieść się do hipotez, gdyby takowe zostały przedstawione). Nasunęło mi się również pytanie, do którego Doktorantka, mam nadzieję, ustosunkuje się w trakcie dyskusji. Mianowicie w badaniach reakcji omułek na ekspozycję na diklofenak nie stwierdzono zasadniczo wpływu, który uwidoczniłby się poprzez zastosowane biomarkery (z wyjątkiem GR), natomiast stwierdzono wyraźne zmiany histopatologiczne u omułek ekspozowanych na działanie farmaceutyku i jego metabolitów. Kłóci się to trochę z ogólnie podawaną w podręcznikach ekotoksykologii kolejnością przejawiania się oddziaływań szkodliwych substancji chemicznych poziomy organizacji biologicznej. Z czego mogłaby wynikać taka rozbieżność? i co, wobec jej stwierdzenia i istnienia, należałoby uznać za zasadniczy sygnał oddziaływania farmaceutyków, przydatny w diagnozie środowiskowej: analizy biochemiczne tkanek, analizy histopatologiczne, czy coś jeszcze innego (np. upośledzenie funkcji układów, których tkanki wykazują szkodliwe oddziaływanie badanych specyfików)?

Autorka kończy przedstawianie pracy wnioskami (Rozdział 5). W mojej ocenie wniosek 1 jest zbędny, z powodów, które wyjaśniałam powyżej – to, że *Mytilus trossulus* jest dobrym gatunkiem modelowym nie było wynikiem badań Autorki, lecz zostało ustalone, zanim

badania podjęto. Pozostałe wnioski nie budzą zastrzeżeń, aczkolwiek mogłyby w sposób wyraźniejszy odnieść się do sformułowanych na początku celów, jak i tytułu pracy („Los środowiskowy...”).

Przechodząc teraz do publikacji stanowiących integralną część dysertacji, chciałabym stwierdzić, że:

- Publikacja 1 („*Mytilidae as model organisms...*”; Doktorantka jako pierwsza autorka i autor-korespondent) jest sama w sobie dobrym i użytecznym przeglądem literatury odnoszącym się do farmaceutyków spotykanych w środowisku najczęściej i przydatności *Mytilidae* jako bioindykatorów. Artykuł jest ciekawie napisany a jego przygotowanie wymagało znacznej pracy „poszukiwawczej” autorów. W mojej ocenie artykuł może okazać się bardzo właściwy jako lektura zalecana dla studentów, np. kursu Podstaw Ekotoksykologii. Jednakże, na co już zwróciłam uwagę, nie wydaje mi się, aby artykuł ten był szczególnie przydatny do realizacji zasadniczych celów pracy (pomijając dyskusyjny cel zbierania literatury).

- Publikacja 2 („*Effects of environmentally relevant concentrations...*”; Doktorantka jako pierwsza autorka; J. Maculewicz jako autor-korespondent) przedstawia wyniki eksperymentów laboratoryjnych odnoszących się do oddziaływania diklofenaku, w koncentracjach bliskich środowiskowym, na omułka. Autorzy jako pierwsi przedstawili dokumentację zmian histologicznych powodowanych przez ekspozycję na ten specyfik i jego pochodne i sformułowali ważne wnioski odnośnie do stanu zdrowia organizmów ekspozowanych na diklofenak oraz nakreślili kierunki innych niezbędnych badań (np. badanie ekspozycji chronicznej). Nasuwa mi się jednak pytanie odnośnie do tego, co Autorka/Autorzy uważają za stężenia diklofenaku bliskie środowiskowym, skoro na stacji Orłowo, skąd pobierane były omułki, diklofenaku praktycznie nie stwierdzono.

- Publikacja 3: niestety, na temat tej publikacji nie mogę się wypowiedzieć, ponieważ egzemplarz dysertacji, jaki otrzymałam do oceny, tej publikacji nie zawiera – zamiast niej ponownie umieszczono tu Publikację 2.

- Publikacja 4 („*Exposure of *Mytilus trossulus* to diclofenac...*”; Doktorantka jako pierwsza autorka; J. Maculewicz jako autor-korespondent) zawiera najważniejsze dla rozprawy dane dotyczące reakcji omułka na oddziaływanie diklofenaku i jego pochodnej, a także dane dotyczące środowiskowych losów farmaceutyku. Dane te są niewątpliwie nowe, wartościowe i bardzo potrzebne, natomiast artykuł w jego opublikowanym kształcie nasuwa mi kilka pytań i zastrzeżeń. Po pierwsze, pytanie podobne jak do Publikacji 2 – brak diklofenaku w Orłowie, skąd więc mowa o stężeniach bliskich środowiskowym? Po

drugie, w artykule mowa jest jedynie o stężeniach nominalnych. W polskim omówieniu wyników Autorka poprawnie odniosła się do różnicy między stężeniami nominalnymi a realnymi. Dalsze moje zastrzeżenia dotyczą bardziej pracy recenzentów i redaktorów czasopisma, niż Autorów. Chodzi mi o: (a) przedstawienie wyników na Fig. 1 (zakładając, że przedstawione są średnie dla $n=5$, brakuje odniesienia się do stopnia niepewności w postaci np. odchylenia standardowego czy przedziału ufności, a przecież wykonano analizy statystyczne); na ten brak powinni byli oczywiście zwrócić Autorom uwagę redaktorzy i recenzenci artykułu; (b) niekonsekwentny sposób przedstawiania współczynnika biokoncentracji – raz jako liczby niemianowanej (tekst przywołujący wartości OECD), gdzie indziej – w jednostkach l/kg (Table 3 i tekst polski); (c) usterki gramatyczne (widoczne również w pozostałych publikacjach).

- Publikacja 5 („Presence of pharmaceuticals and their metabolites...”; Doktorantka jako pierwsza autorka; J. Maculewicz jako autor-korespondent) jest znowu artykułem przeglądowym, niekoniecznie potrzebnym jako praca stanowiąca element rozprawy. Tym niemniej artykuł ten jest efektem wielkiego wysiłku poszukiwawczego i jest bardzo wartościową lekturą, o dużej wartości dydaktycznej oraz jako podstawa dla rozwijania dalszych badań na temat oddziaływania farmaceutyków na organizmy wodne.

- Publikacja 6 („A multi-biomarker approach...”; Doktorantka jako pierwsza autorka; J. Maculewicz jako autor-korespondent) jest bardzo wartościowym artykułem zwracającym uwagę na oznaki oddziaływania diklofenaku i jego pochodnej w strukturze histologicznej *Mytilus trossulus*.

- Publikacja 7 („Long-term stability....”; Doktorantka jako pierwsza autorka i autor-korespondent) przynosi bardzo ciekawe i ważne dane doświadczalne dotyczące trwałości diklofenaku i jego pochodnej w środowisku. Można byłoby dodać, że wniosek o wysokiej stabilności diklofenaku i 4-OH-diklofenaku w wodzie i płynące stąd zagrożenia dla organizmów pelagicznych mogłyby być uzupełniony o to, że zagrożenie to dotyczy również organizmów bentonicznych zaangażowanych w sprzężenia pelagial-bental, jak np. osiadłe organizmy filtrujące, w tym omulek.

Podsumowując, chciałabym stwierdzić, że moja generalna ocena pracy, w odniesieniu do sformułowanych na wstępie recenzji elementów oceny [tu powtórzę: 1) wybór przedmiotu i tematu pracy; 2) cele i metody badawcze oraz struktura rozprawy pozwalające na ustosunkowanie się do umiejętności samodzielnego przygotowania dzieła naukowego; 3) wykazanie przez kandydatkę ogólnej wiedzy teoretycznej w dyscyplinie Nauki o Ziemi i środowisku; 4) oryginalność w rozwiązaniu problemu badawczego; 5) przygotowanie pracy od strony formalnej] – wypada pozytywnie.



Co do pierwszego elementu oceny: Autorka skoncentrowała się na niedostatecznie rozpoznanym problemie obecności farmaceutyków, w szczególności diklofenaku i jego metabolitów, w środowisku morskim (woda i osady Bałtyku) i w modelowym gatunku *Mytilus trossulus*, który w naturalnym środowisku może być potencjalnie narażony na oddziaływanie tych substancji.

Odnosnie do drugiego elementu oceny: Autorka nie zaproponowała co prawda do testowania nośnych hipotez, lecz przedstawiła w większości dobrze przemyślane cele badawcze, zastosowała właściwe metody, skomponowała pracę o formie adekwatnej do treści (biorąc pod uwagę zarówno syntezę jak i gotowe publikacje w liczbie 7).

Mówiąc o trzecim elemencie oceny należy stwierdzić, że Autorka wykazała się odpowiednią wiedzą teoretyczną w swojej dyscyplinie i w odniesieniu do obiektu swoich badań.

Jeśli chodzi o czwarty element oceny, nie ulega kwestii, że Autorka zastosowała metody badawcze, które przyniosły efekty w postaci nowych danych a jednocześnie interpretacja uzyskanych wyników, akcentująca problemy wymagające rozwiązania, otwiera nowe perspektywy badawcze. Należy też podkreślić, że wykonanie przedstawionych w rozprawie badań, nawet we współpracy zespołu badawczego, wymagało ogromnego nakładu pracy i czasu, czego jestem świadoma.

I wreszcie aspekty formalne, piąty element oceny pracy, nie budzą większych zastrzeżeń (z wyjątkiem przede wszystkim braku Publikacji 3).

Mój generalny odbiór pracy jest w sensie merytorycznym bardzo pozytywny, a uwagi krytyczne nie zmniejszają dla mnie wartości ocenianej rozprawy. Przedstawione badania były potrzebne, zostały skrupulatnie przeprowadzone i wniosły wiele nowych danych do ekotoksykologii morskiej, ze szczególnym uwzględnieniem Morza Bałtyckiego i jego bardzo istotnego mieszkańca – omułka *Mytilus trossulus*. Zastosowana metodyka okazała się właściwa i skuteczna a wartościowe wyniki pozwoliły na opublikowanie ich w ważnych czasopismach międzynarodowych.

Konkludując pragnę stwierdzić, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia kryteria stawiane tego rodzaju opracowaniom [p. Art. 187 ust. 1 i 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018, poz. 1668)]. Zatem zgłaszam Radzie Dyscypliny Nauki o Ziemi i Środowisku Uniwersytetu Gdańskiego wniosek o uznanie, że rozprawa Pani mgr Klaudii Świackiej odpowiada wymogom stawianym



rozprawom doktorskim oraz o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Szczecin, 22.08.2023