

Gdańsk, 27.09.2023

**Prof. dr hab. Lidia Wolska**  
Zakład Toksykologii Środowiska  
Wydział Nauk o Zdrowiu  
Gdański Uniwersytet Medyczny

## OCENA

*rozprawy doktorskiej mgr Kariny BODZIACH*

pt.: „**Uptake, accumulation and elimination of endocrine disrupting phenolic compounds in selected waterbirds from the southern Baltic**”  
(*Wnikanie i eliminacja endokrynnie aktywnych pochodnych fenolu u wybranych ptaków wodnych z rejonu południowego Bałtyku*)  
w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplinie nauk o ziemi i środowisku

Promotor: dr hab. inż. Marta Staniszevska, prof. UG

Promotor pomocniczy: dr Iga Nehring

### 1. Podstawa formalna oceny

Rada Dyscypliny Nauki o Ziemi i Środowisku Uniwersytetu Gdańskiego (UG) powołała mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr **Kariny BODZIACH** zatytułowanej: **Uptake, accumulation and elimination of endocrine disrupting phenolic compounds in selected waterbirds from the southern Baltic**” (*Wnikanie i eliminacja endokrynnie aktywnych pochodnych fenolu u wybranych ptaków wodnych z rejonu południowego Bałtyku*).

O wykonanie opinii zwrócił się w dniu 11.07.2023 prof. dr hab. Wojciech Tylmann, Przewodniczący Rady Dyscypliny Nauki o Ziemi i Środowisku.

Praca była wykonana w Zakładzie Chemii Morza i Ochrony Środowiska Morskiego (Instytut Oceanografii), Uniwersytetu Gdańskiego.

Promotorem pracy była dr hab. inż. Marta Staniszevska, prof. UG, promotorem pomocniczym: dr Iga Nehring.

**Warunki stawiane rozprawom doktorskim zostały określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.**

Przedstawiona do oceny praca doktorska oparta jest na cyklu powiązanych tematycznie czterech artykułów naukowych (trzech opublikowanych i jednym w trakcie recenzji):

**P1. Bodziach K.**, Staniszevska M., Falkowska L., Nehring I., Ożarowska A., Zaniewicz G., Meissner W., 2021. Gastrointestinal and respiratory exposure of water birds to endocrine disrupting phenolic compounds. *Science of The Total Environment* 754, 142435, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142435>.

**Udział doktoranta w pracy: 50%**

IF: 10.754, 5-year IF: 8.01, Lista MEiN 2022: 200 pkt

Opis wkładu Doktorantki w publikacji P1 w sekcji Contribution:

Karina Bodziach: Resources, Conceptualization, Investigation, Validation, Formal analysis, Visualization, Writing - original draft, Writing - review & editing

**P2. Bodziach K.**, Staniszewska M., Falkowska L., Nehring I., Ożarowska A., Zaniewicz G., Meissner W., 2021. Distribution path of endocrine disrupting phenolic compounds in waterbirds (*Mergus merganser*, *Clangula hyemalis*, *Alca torda*) from southern Baltic. *Science of The Total Environment*, 793, 148556, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148556>.

**Udział doktoranta w pracy: 50%**

IF: 10.754, 5-year IF: 8.01, Lista MEiN 2022: 200 pkt

**Opis wkładu Doktorantki w publikacji P2 w sekcji Contribution:**

Karina Bodziach: Resources, Conceptualization, Investigation, Validation, Formal analysis, Visualization, Writing – original draft, Writing – review & editing

**P3. Bodziach K.**, Staniszewska M., Nehring I., Ożarowska A., Zaniewicz G., Meissner W., 2022. Elimination of endocrine disrupting phenolic compounds via feathers and Claus in seabirds moulting in the Baltic and Russian Arctic. *Science of the Total Environment* 853, 158641, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158641>.

**Udział doktoranta w pracy: 55%**

IF: 10.754, 5-year IF: 8.01, Lista MEiN 2022: 200 pkt

**Opis wkładu Doktorantki w publikacji P3 w sekcji Contribution:**

Karina Bodziach: Resources, Conceptualization, Investigation, Validation, Formal analysis, Visualization, Writing – original draft, Writing – review & editing.

**P4. Bodziach K.**, Staniszewska M., Nehring I., Ożarowska A., Zaniewicz G., Meissner W., 2023. Endocrine disrupting bisphenol A, 4-*tert*-octylphenol and 4-nonylphenol in gonads of long-tailed ducks *Clangula hyemalis* wintering in the southern Baltic (under review in the *Science of the Total Environment*).

**Udział doktoranta w pracy: 55%**

Praca w recenzji [IF: 10.754, 5-year IF: 8.01, Lista MEiN 2023: 200]

**Opis wkładu Doktorantki w publikacji P4 w sekcji Contribution:**

Karina Bodziach: Resources, Conceptualization, Investigation, Validation, Formal analysis, Visualization, Writing - Original Draft, Writing - Review & Editing

**(P1-P3): Suma IF: 32.262, suma 5-year IF: 24.03, suma pkt. MEiN: 600**

**(P1-P4), potencjalnie): Suma IF: 43.016, suma pkt. MEiN: 800**

## **2. Ocena zasadności podjęcia tematu i teoretycznego przygotowania Dyplomanta do realizacji pracy**

W pracy Doktorantka zajęła się zjawiskiem wnikania, dystrybucji i eliminacji endokrynnie aktywnych pochodnych fenolu u wybranych ptaków wodnych z rejonu południowego Bałtyku.

W pracy analizowane były pochodne fenolu w postaci: bisfenolu A (BPA), 4-*tert*-oktylofenolu (4-t-OP) i 4-nonylofenolu (4-NP), które od lat są powszechnie używane w życiu codziennym. Jednocześnie są to związki o działaniu endokrynnym. Związki te znalazły się na liście 66 priorytetowych substancji, ogłoszonej w 2000 roku przez Komisję Europejską, jako związki, które występują w środowisku i stwarzają zagrożenie poprzez działanie endokryne.

Dyrektor Narodowego Instytutu Nauk o Zdrowiu Środowiskowym (National Institute of Environmental Health Sciences - NIEHS), w latach 2009–2019, Linda S. Birnbaum, w swojej pracy *State of the science of endocrine disruptors* [Environ Health Perspect 2013 Apr;121(4):A107; doi: 10.1289/ehp.1306695] pisze:

- w ciągu ostatniego dziesięciolecia nastąpił znaczący postęp w wiedzy na temat substancji zaburzających gospodarkę hormonalną (EDC):

- zbieżność danych dotyczących dzikich i laboratoryjnych zwierząt oraz danych epidemiologicznych sugeruje większą rolę EDC w chorobach niż przewidywano to jeszcze 10 lat temu (czyli ok. 2000 roku);
- udział środowiska w powstawaniu chorób wynosi 24-33% globalnego obciążenia chorobami. Istnieje ogromna szansa na poprawę zdrowia ludzkiego poprzez identyfikację elementów środowiskowych, które mają wpływ na zdrowie publiczne;
- wykazano duże prawdopodobieństwo, że narażenie na EDC w okresie życia płodowego i/lub dojrzewania odgrywa rolę w rozprzestrzenianiu się problemów reprodukcyjnych mężczyzn i kobiet, nowotworów związanych z endokrynami, infekcji, astmy, otyłości, cukrzycy oraz zaburzenia zachowania i uczenia się, w tym zespół deficytu uwagi i nadpobudliwości psychoruchowej (ADHD).
- EDC prawdopodobnie wpływają na wszystkie układy hormonalne, które kontrolują rozwój i funkcje narządów rozrodczych, regulację metabolizmu i uczucie sytości. Ostatnie badania wykazały, że EDC wpływają również na systemy fizjologiczne, które kontrolują rozwój tkanki tłuszczowej, przyrost masy ciała i poziom glukozy.

Powyższe informacje już w roku 2000 brzmiały alarmistycznie, a tymczasem, w 2011 roku, Duńska Agencja Ochrony Środowiska postawiła dodatkową tezę, która może zapowiadać jeszcze bardziej złowieszcze następstwa zanieczyszczenia środowiska tymi związkami. Teza ta brzmi: „Istnieje wiele przesłanek, że to czas ekspozycji stanowi bardziej krytyczny parametr w relacji do skutków niż dawka.”

Nie bez znaczenia jest również wzajemne współdziałanie związków obecnych w środowisku, prowadzące do różnych efektów wynikających z addycji, antagonizmu czy synergizmu.

Wprawdzie powyższe problemy są podnoszone w kontekście negatywnego wpływu związków endokrynnie czynnych na funkcjonowanie układu hormonalnego człowieka, i bezpośrednie wnioskowanie nie jest uprawnione, to jednak człowiek stanowi element ekosystemu, w którym funkcjonują również inne organizmy, powiązane ze sobą w różny sposób oraz powiązane z człowiekiem.

Biorąc to pod uwagę, podjęcie przez Doktorantkę badań w zakresie endokrynnie aktywnych pochodnych fenolu u wybranych ptaków wodnych z rejonu południowego Bałtyku ma bardzo mocne uzasadnienie.

Przystępując do pracy Doktorantka postawiła następujące hipotezy badawcze, cytuję:

1. Alki *Alca torda*, lodówki *Clangula hyemalis* i nurogęsi *Mergus merganser* bytujące w rejonie południowego Bałtyku charakteryzują się zróżnicowanym narażeniem na BPA i alkilofenole.
2. Inhalacja stanowi istotną drogę narażenia alki *Alca torda*, lodówki *Clangula hyemalis* i nurogęsi *Mergus merganser* na BPA, 4-*t*-OP i 4-NP.
3. Narządy strategiczne dla prawidłowego rozwoju i funkcjonowania ptaków tj. gonady, mózgi, nerki i wątroby, stanowią główne miejsca kumulacji endokrynnie aktywnych pochodnych fenolu.

4. Pióra i pazury alki *Alca torda* oraz lodówki *Clangula hyemalis* stanowią istotną drogę eliminacji pochodnych fenolu z ich organizmów.
5. Jelita, płuca i pióra alki *Alca torda*, lodówki *Clangula hyemalis* i nurogęsi *Mergus merganser* są dobrymi wskaźnikami zanieczyszczenia środowiska pochodnymi fenolu.

Materiałem badawczym wykorzystywanym w pracy doktorskiej były ptaki, o zróżnicowanych zwyczajach żywieniowych:

- nurogęś *Mergus merganser* jest ptakiem z przewagą diety rybnej mieszanej,
- kaczka długoogoniasta *Clangula hyemalis* żeruje na bentosie oraz
- brzytwa zwyczajna *Alca torda* żerująca na rybach pelagicznych.

W kolejno realizowanych zadaniach Doktorantka zajęła się oznaczaniem wytypowanych związków endokrynnie czynnych w różnych organach i płynach ustrojowych ptaków, by w rezultacie określić drogi ich wnikania, dystrybucji i eliminacji. Rezultaty prac opisane są w czterech publikacjach wymienionych powyżej, zaś poniżej odnoszę się pokrótce do najważniejszych wątków każdej z nich.

#### **P1**

W ramach pracy Doktorantka oznaczała stężenie bisfenolu A (BPA), 4-tertoktylofenolu (4-t-OP) i 4-nonylofenolu (4-NP) we krwi oraz w jelitach i płucach ptaków (nurogęś, kaczka długoogoniasta, brzytwa zwyczajna), które pochodziły z przyłotów (zima 2014–2016) w południowym Bałtyku.

Korelacje pomiędzy stężeniami pochodnych fenolu we krwi oraz w jelitach i płucach wykazały, że ptaki są narażone na przenikanie pochodnych fenolu drogą pokarmową jak i drogą oddechową.

W przypadku BPA główną drogą przedostawania się do organizmu ptaków była droga pokarmowa, zaś alkilofenoli (4-NP i 4-t-OP) we wprowadzaniu tych związków do organizmu istotną rolę odgrywał zarówno układ pokarmowy, jak i oddechowy.

W pracy udowodniono, że narażenie na fenole drogą oddechową jest istotnym, jeśli nie równoważnym czynnikiem przenikania pochodnych fenolu ze środowiska do organizmów ptaków. Wyniki te są nową i bardzo istotną informacją uzupełniającą obszar wiedzy w tym temacie.

#### **P2**

Oznaczono stężenia bisfenolu A (BPA), 4-tertoktylofenolu (4-t-OP) i 4-nonylofenolu (4-NP) w mózgach, tłuszczu podskórnym, nerkach, wątrobie i mięśniach piersiowych.

Ważniejsze, wg mnie, wnioski sformułowane w pracy to:

- Po spożyciu pochodnych fenolu drogą pokarmową, ich dystrybucja u ptaków zachodziła praktycznie w całym organizmie, natomiast narażenie oddechowe ograniczało dystrybucję tych związków głównie do nerek i mięśni.
- BPA i 4-NP akumulowały się najwięcej w mięśniach, wątrobie i nerce natomiast 4-t-OP magazynowany był w mózgu, tłuszczu podskórnym i wątrobie.
- Różne miejsca docelowe akumulacji poszczególnych fenoli pochodnych wskazały, że każdy z badanych związków może mieć odmienne skutki zdrowotne u ptaków. I tak BPA i 4-NP, te o najwyższych stężeniach w środowisku, a także w wątrobach i nerkach ptaków, mogą mieć największy potencjał zakłócania prawidłowego funkcjonowania tych narządów, natomiast 4-t-

OP pomimo niskich stężeń w środowisku transportowany jest w organizmach ptaków bezpośrednio z krwi do mózgu.

- Nagromadzenie pochodnych fenolu w tłuszczu ogranicza ich przenikanie do mózgu

W dyskusji szeroko omówiono kumulowanie się analitów w poszczególnych organach z odniesieniem do potencjału przekraczania barier istniejących w organizmach żywych (np. bariera krew-mózg, bariera powietrze (pęcherzyki płucne) – krew).

### P3

W pracy zbadano skuteczność usuwania pochodnych fenolu z organizmów ptaków (kaczek długoogoniastych i brzytew) za pomocą pazurów i lotek.

Usuwanie pochodnych fenolu, w zależności od związku i produktu naskórkowego, waha się od 12% do 34%. Spośród tych związków, u obu gatunków ptaków, najwyższy stopień eliminacji 4-NP zaobserwowano w lotkach.

Dane literaturowe wskazują, że Morze Bałtyckie jest około 3 razy bardziej zanieczyszczone 4-NP niż obszary morskie rosyjskiej Arktyki. Ta obserwacja skłoniła współautorów do wskazania potencjału wykorzystania 4-NP i lotek jako wskaźników zanieczyszczenia środowiska pochodnymi fenolu.

### P4

W pracy tej Doktorantka skupiła się na oznaczeniu stężeń pochodnych fenolu w gonadach ptaków morskich (kaczki długoogoniaste, żywiące się głównie bentosem) oraz zbadaniu potencjalnych czynników (wiek, płeć i region) wpływających na stopień ich bioakumulacji.

Wpływ oznaczanych fenoli na organizmy ptaków, w tym na ich rozrodczość i układ hormonalny, jest słabo poznany. Stąd uzyskane wyniki (zbieżne z nielicznymi doniesieniami innych naukowców) wskazujące, że:

- u ptaków starszych (dojrzałych) stężenia fenoli w gonadach były wyższe w porównaniu do ptaków niedojrzałych,
- spośród pochodnych fenolu, 4-NP osiągał najwyższe stężenia w gonadach badanych ptaków,
- wśród dorosłych kaczek długoogoniastych pochodne fenolu charakteryzowały się wyższymi stężeniami u samców niż u samic,
- gonady nie były główną tkanką bioakumulacji pochodnych fenolu,

mogą sugerować, że obecny stan zanieczyszczenia środowiska Morza Bałtyckiego związkami zaburzającymi funkcjonowanie układu hormonalnego jest przyczyną aż 65% spadku populacji kaczki długoogoniastej w tym obszarze.

Biorąc pod uwagę narządy, które byłyby najbardziej wrażliwe na działanie pochodnych fenolu, zaburzających funkcjonowanie układu hormonalnego, BPA i 4-NP wykazywały większą tendencję do gromadzenia się w gonadach kaczek długoogoniastych, podczas gdy 4-t-OP ulegał głównie bioakumulacji w ich mózgu.

**Chciałabym mocno podkreślić, że w każdej publikacji zawarta jest szeroka, bardzo interesująca i dojrzała dyskusja wyników z odniesieniem do danych prezentowanych w światowej literaturze.**

Do bardzo cennych zaliczam uzupełnienie wiedzy na temat dróg narażenia, dystrybucji narządowej i eliminacji trzech wytypowanych pochodnych fenolu.

Mnie szczególnie zainteresował nowatorski wątek narażenia ptaków na aerozol morski i wykazanie, że tą drogą do organizmu przenikają istotne ilości ksenobiotyków, których dystrybucja narządowa odbywa się w nieco inny sposób niż tej części ksenobiotyków, które wnikają drogą pokarmową.

Należy dodać, że:

- pozyskiwany materiał badawczy był we właściwy sposób przechowywany i kontrolowany oraz rozdysponowywany do badań;
- do oznaczania analitów zastosowano nowoczesne metody analityczne, Doktorantka uczestniczyła w wykonywaniu oznaczeń;
- wyniki poddano analizie statystycznej, oświadczenia autorów wskazują, że wykonywała je Doktorantka.

Podsumowując:

1. Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich czterech publikacjach, Jej wkład w powstanie publikacji obejmuje udział w koncepcji pracy, wykonaniu oznaczeń, analizie danych, wykonaniu wykresów, rysunków i pisaniu manuskryptu,
2. na końcu materiału zamieszczone są kopie publikacji wraz z oświadczeniami współautorów o udziale Doktoranta w prezentowanych publikacjach. W dwóch publikacjach udział określony jest na 50%, w kolejnych dwóch odpowiednio na 55% i poświadczany przez innych autorów,
3. Przedstawione wnioski wynikają z przeprowadzonych badań i mają odniesienie do rzeczywiście uzyskanych wyników,
4. praca jest wartościowa, ciekawa, na wysokim poziomie merytorycznym,
5. każda publikacja zawiera bardzo rzetelnie przygotowany wstęp oraz niezwykle ciekawą i dojrzałą dyskusję wyników, domyślam się, że wraz z postępowaniem w realizacji pracy udział Doktorantki w tej dyskusji był coraz większy,
6. przedstawiony w rozprawie doktorskiej przegląd literatury oraz dyskusja wyników, a także zawarte w publikacjach rozdziały: Introduction, Results and discussion, wskazują, że **Doktorantka opanowała ogólną wiedzę teoretyczną niezbędną dla osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki o ziemi i środowisku.**

Doktorantka właściwie zaplanowała zadania badawcze, przeprowadziła oznaczenia z wykorzystaniem nowoczesnych metod analitycznych oraz wykonała analizę wyników, **wykazała się przy tym umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej**, jednocześnie wykazując zdolność do współpracy z gronem naukowców.

**Uwagi o charakterze polemicznym i/lub krytycznym, które nasunęły mi się przy lekturze rozprawy doktorskiej**

1. W przedstawionym materiale zabrakło mi informacji o poziomie zanieczyszczenia środowiska analizowanymi fenolami, z obszaru którego pozyskiwano materiał badawczy.
2. W badaniach wykazano istotne znaczenie drogi oddechowej jako jednej z dróg narażenia, czy znane są poziomy stężenie fenoli w aerosolach morskich? Czy może w przestrzeni wiedzy są badania nt. potencjalnego wpływu tych związków na człowieka.

3. Bez wątpienia trudnym tematem jest usuwanie ksenobiotyków poprzez lotki i pazury, tym trudniejszym, że elementy te także sorbuja anality ze środowiska. Prosiłabym i komentarz w tej sprawie.

Wymienione powyżej sugestie i uwagi krytyczne nie zmieniają mojej pozytywnej i bardzo wysokiej oceny pracy.

**Wnioski końcowe:**

W konkluzji stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji praca doktorska pani mgr Kariny Bodziach spełnia ustawowe kryteria stawiane pracom doktorskim (Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1668 z późniejszymi zmianami) tj.:

- rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego,
- Doktorantka wykazuje się ogólną wiedzę teoretyczną w dziedzinie *nauk ścisłych i przyrodniczych* w dyscyplinie *nauki o ziemi i środowisku*,
- przedstawiony mi do oceny materiał, potwierdza umiejętność Doktorantki w zakresie samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Powyższe uzasadnia postawienie wniosku o przyjęcie rozprawy doktorskiej mgr Kariny Bodziach i dopuszczenie jej do publicznej obrony. Co niniejszym czynię.

Jednocześnie wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr Kariny Bodziach.

W uzasadnieniu wniosku podnoszę:

1. bardzo ciekawą i aktualną tematykę pracy, mieszczącą się w nurcie badań światowych;
2. ponadprzeciętnie szerokie spektrum badań obejmujące wnikanie, dystrybucję i eliminację endokrynnie czynnych pochodnych fenolu u ptaków wodnych z rejonu południowego Bałtyku;
3. niezwykle interesujące wyniki badań, które wnoszą nową, unikatową wiedzę na temat dróg wnikania ksenobiotyków do organizmu ptaków wodnych (wykazanie istotności drogi oddechowej);
4. przeprowadzenie nad wyraz dojrzałej dyskusji wyników, która implikuje nowe tematy badawcze;
5. względy formalne: pracę tworzą cztery publikacje (trzy już opublikowane w prestiżowym, wysoko impaktowanym czasopiśmie STOTEN).

Gdańsk, 27.09.2023

  
**KIEROWNIK**  
Zakładu Toksykologii Środowiska  
*prof. dr hab. Lidia Wolska*