

Gdańsk, 2022-04-19

Recenzja

rozprawy doktorskiej autorstwa mgr Moniki Wieczorek zatytułowanej „Zastosowanie chromatografii gazowej w analizie moczu i śliny na zawartość tiolaktonu homocysteiny”

Oznaczanie wybranych metabolitów w płynach biologicznych człowieka, pomimo nieustannego rozwoju metodologii analitycznej, w dalszym ciągu stanowić może istotne wyzwanie dla analityki. Jednocześnie opracowanie odpowiednich narzędzi analitycznych do oznaczania związków aktywnych w materiale biologicznym, w tym również związków endogennych pochodzących z przemian biochemicznych, oraz znalezienie zależności ilościowych pomiędzy ich obecnością a stanem patologicznym może stanowić istotny postęp w dążeniu do poprawy diagnostyki chorób cywilizacyjnych.

Oceniana praca doktorska mgr Moniki Wieczorek wykonana została pod kierunkiem prof. dr. hab. Rafała Głowackiego kierownika Katedry Chemii Środowiska, Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Jest podsumowaniem badań nad opracowaniem metod oznaczania tiolaktonu homocysteiny (HTL) w płynach biologicznych człowieka z zastosowaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas oraz poszukiwania zależności pomiędzy ich stężeniami a stanem fizjologicznym. Wyniki badań Doktorantki dotyczące bezpośrednio ocenianej dysertacji opublikowane zostały w trzech artykułach oryginalnych w renomowanych czasopismach naukowych takich jak: *Journal of Chromatography B* (dwie prace) i *International Journal of Molecular Sciences* oraz jednej

pracy poglądowej, która ukazała się w czasopiśmie *Analityka*. Wszystkie wyżej wymienione prace ukazały się w okresie od 2018 do 2021 roku. Sumaryczna wartość współczynnika wpływu (*Impact Factor, IF*) tych publikacji to 12,3. W dwóch wyżej wymienionych artykułach p. mgr Wieczorek jest pierwszym autorem co potwierdza istotną rolę oraz wiodące zaangażowanie Doktorantki w realizację badań oraz powstawanie prac. Całkowity dorobek publikacyjny Doktorantki, razem z pracami stanowiącymi podstawę osiągnięcia naukowego opisywanego w pracy doktorskiej, na dzień składania rozprawy doktorskiej, to w sumie 7 prac z czego 6 opublikowanych w prestiżowych czasopismach z listy *Journal Citation Reports (JCR)*. Wyniki badań mgr Moniki Wieczorek były przedstawiane podczas krajowych i międzynarodowych konferencji zarówno w postaci wystąpień ustnych jak i prezentacji plakatowych. Doktorantka była wykonawcą w projekcie OPUS finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki jak i działaniu naukowym w ramach konkursu MINIATURA tej samej agencji grantowej. Jest, dwukrotnie, laureatką stypendium dla najlepszych doktorantów UŁ (2018 i 2020), Nagrody II stopnia za najlepszą publikację naukową Wydziału Chemii w 2020 roku oraz zespołowej naukowej Nagrody Rektora za cykl publikacji w 2021 r.

Rozprawa doktorska mgr Moniki Wieczorek jest napisana w języku polskim i ma charakter zbioru czterech opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych. We wstępie obejmującym ok. 25 stron przedstawione są podstawowe informacje z zakresu właściwości fizykochemicznych, występowania oraz roli fizjologicznej tiolaktonu homocysteiny, w tym także rola w patogenezie wielu chorób m.in. układu krążenia. Przedstawiono także dotychczasowe osiągnięcia w zakresie metod oznaczania tiolaktonu homocysteiny w płynach biologicznych. Przedstawienie wyników badań poprzedza uzasadnienie podjęcia tematu badań, w którym niejako przedstawiony jest też cel rozprawy doktorskiej. W mojej ocenie brakuje w pracy jasno sprecyzowanego akapitu/rozdziału, w którym krótko przedstawiony jest cel pracy. Wyniki badań zostały opublikowane w trzech z cyklu czterech artykułów i poprzedzane są krótkim 2 stronicowym omówieniem publikacji w języku polskim. Czwarta publikacja z cyklu ma charakter przeglądowo/poglądowy i ukazała się w specjalistycznym i

prestżowym krajowym periodyku *Analityka*. Integralną częścią dysertacji są publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej a całość rozprawy wieńczy podsumowanie, w którym w krytyczny sposób przedstawiono zalety i ograniczenia opracowanych metod oraz wnioski dotyczące śliny jako materiału biologicznego w odniesieniu do osocza i moczu. Wnioski końcowe przedstawiono w 9 zwięzłych punktach. Rozprawę uzupełniają streszczenie w języku angielskim, wykaz skrótów i symboli, oraz oświadczenia współautorów. Do rozprawy dołączone zostały, w postaci osobnego rozdziału, pozostałe osiągnięcia naukowe Doktorantki, w tym inne niż zgłoszone w rozprawie publikacje naukowe, wymieniony został udział w konferencjach naukowych, osiągnięte stypendia oraz zaangażowanie w realizację innych projektów naukowo-badawczych.

Podstawowym celem pracy było opracowanie oryginalnych oraz odpowiednio czułych procedur analitycznych składających się z etapu przygotowania próbek oraz oznaczania jakościowego i ilościowego z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS) w celu oznaczania tiolaktonu homocysteiny w płynach biologicznych. Jednocześnie podjęto próbę oceny przydatności śliny jako matrycy służącej do oznaczania HTL w potencjalnej diagnostyce chorób.

Do wymiernych efektów prowadzonych badań Doktorantki opisanych w rozprawie oraz w załączonych publikacjach stanowiących podstawę rozprawy należą:

- opracowanie całkowicie nowej, czulej oraz szybkiej metodyki analitycznej oznaczania tiolaktonu homocysteiny w próbkach moczu i śliny człowieka z wykorzystaniem techniki GC-MS,
- wykazanie, po raz pierwszy w literaturze światowej, obecności HTL w ślinie pochodzącej od zdrowych ochotników,
- brak, na podstawie dotychczasowych wyników badań, zależności pomiędzy poziomami HTL oznaczanymi w ślinie oraz w moczu,

- zaproponowanie nowo opracowanej metody oznaczania HTL w płynach biologicznych człowieka opartej na technice GC-MS jako alternatywy dla dotychczas wykorzystywanych metod wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) i elektroforezy kapilarnej (CE).

Praca doktorska mgr Moniki Wieczorek jest wartościowa i posiada elementy nowości naukowej, niemniej jednak, wypada zwrócić uwagę na te nieliczne aspekty rozprawy, które budzą pytania bądź wymagają dodatkowego komentarza. W moim odczuciu, brak jest w pracy jasno wyodrębnionej hipotezy badawczej, której przeprowadzane badania, otrzymane wyniki i ich interpretacja byłyby weryfikacją. W konsekwencji zaobserwowany brak korelacji pomiędzy obecnością tiolaktonu homocysteiny w ślinie oraz w moczu pochodzących od tych samych osób jest stwierdzeniem o implikacjach czysto analitycznych i nie prowadzi do dalszej bardziej zaawansowanej interpretacji, jakiej można by oczekiwać po m.in. zestawieniu danych literaturowych w rozdziale 1.3. Nie dość zwięźle brzmi i trudno jest zgodzić się ze stwierdzeniem zamieszczonym na str. 80 w punkcie 5 wniosków końcowych, że „Przygotowanie próbki biologicznej do analizy, w tym przypadku śliny oraz moczu, wymaga zastosowania ekstrakcji w celu uproszczenia matrycy oraz zateżenia analitu”. Brakuje w zdaniu dookreślenie, że chodzi o analizę HTL a nie jak można by interpretować wszystkie analizy próbek śliny i moczu.

Uznanie za to budzi rozdział 5.1 gdzie w krytyczny sposób przedstawiono ograniczenia opracowanych metod nie bojąc się użyć określeń jak ‘zakończyły się niepowodzeniem’. Nie jest to wcale częsta sytuacja, gdy autorzy publikacji bądź dysertacji przyznają się i opisują niepowodzenia jakie niewątpliwie spotykają każdego dociekliwego badacza.

Powyższe uwagi i pytania nie wpływają na ogólną wartość merytoryczną pracy, którą oceniam bardzo wysoko. Praca doktorska Pani mgr Moniki Wieczorek ma walory nowości i oryginalności naukowej. Dysertacja potwierdza wysoką wiedzę i umiejętności Kandydatki do stopnia naukowego

doktora nauk chemicznych. Zawiera także elementy wyników potencjalnie atrakcyjne do wykorzystania w prowadzenia dalszych badań z możliwością wykorzystania w celach diagnostycznych.

Biorąc powyższe pod uwagę oraz fakt spełnienia wymagań ustawowych wnioskuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie mgr Moniki Wieczerek do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dyscyplinie nauki chemiczne.

KIEROWNIK ZAKŁADU
Biofarmacji i Farmakokinetyki
prof. dr hab. Michał J. Markuszewski

