



WARSZAWSKI
UNIwersYTET
MEDYCZNY

PRACOWNIA FARMACJI KRYMINALISTYCZNEJ

Warszawa, dnia 12.01.2022

OCENA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Marioli Wickiej pt.

"Badania toksykologiczne płynów ustrojowych z wykorzystaniem chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas"

wykonanej w Polskim Laboratorium Antydopingowym pod kierunkiem prof. dr hab. Ewy Bulskiej (Pracownia Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego) i dr hab. inż. Doroty Kwiatkowskiej (Polskie Laboratorium Antydopingowe).

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska posiada klasyczny, opisowy układ redakcyjny, z typowym dla prac doświadczalnych podziałem na wydzielone części i zawartość merytoryczną poszczególnych rozdziałów (łącznie 235 stron). Istotnym elementem rozprawy jest informacja o upowszechnieniu uzyskanych wyników, obejmująca wykaz: 6 wieloautorskich publikacji oryginalnych z lat 2014 – 2021 (sumaryczny IF =16,353), dwóch publikacji w Problemach Kryminalistyki i 13 wieloautorskich monografiach opublikowanych w doniesieniach konferencyjnych z lat 2013 - 2021 (Recent Advances in Doping Analysis, Proceedings of the Manfred Donike Workshop, Cologne Workshop on Dope Analysis). Fakt wcześniejszego opublikowania wyników badań w recenzowanych czasopiśmie, stawiających wysokie wymagania autorom, potwierdza ich istotne znaczenie aplikacyjne i naukowe, co w



konsekwencji powinno ułatwić zadanie kolejnemu recenzentowi. Jednak w przypadku tej rozprawy: „*poświęconej rozwojowi metod stosowanych do analizy szerokiego spektrum związków, należących do różnych grup chemicznych, przede wszystkim tych o działaniu psychotropowym i mających znaczenie w działaniach zapobiegających stosowania doping w sporcie*”, do których zaliczono pozamedyczne stosowanie leków, narkotyki, alkohol etylowy i nowe substancje psychoaktywne (NSP), nie ułatwia tego zadania. Lista nowych substancji psychoaktywnych EMCDDA-EDND (European Database on New Drugs) w grudniu 2021 roku zawierała łącznie 890 związków chemicznych, należących do 7 grup farmakologicznych i 14 grup wg klasyfikacji EMCDDA, co łącznie z aktywnymi substancjami farmaceutycznymi (API leków psychotropowych), narkotykami oraz substancjami i metodami zabronionymi, znajdującymi się na liście WADA, daje łącznie ok. 1000 związków chemicznych i metod. Również biorąc pod uwagę ilość wzorców (certyfikowanych materiałów odniesienia i materiałów odniesienia) oraz ilość próbek poddanych badaniom (550 próbek krwi pobranych od osób podejrzanych o prowadzenie pojazdów pod wpływem środków podobnie działających do alkoholu i 15300 próbek moczu pobranych od sportowców podczas kontroli antydopingowej), w tym ilość identyfikowanych i oznaczanych grup związków chemicznych, można odnieść wrażenie, że oceniana rozprawa stanowi swoisty raport z kilkuletniej działalności Polskiego Laboratorium Antydopingowego.

Przechodząc do merytorycznej oceny rozprawy należy stwierdzić, że dotyczy ona niezwykle istotnych zagadnień – głównie zastosowania wybranych metod instrumentalnych, opracowania procedur i ich walidacji oraz badań analitycznych (toksykologicznych), związanych z nielegalnym stosowaniem substancji lub metod zabronionych w sporcie i substancji zabronionych podczas prowadzenia pojazdów. Wytwarzanie i nielegalny handel takimi substancjami związany jest zwykle z działalnością zorganizowanych grup przestępczych, przy czym steroidy anaboliczno-androgenne (SAA) są obecnie jednymi z najczęściej fałszowanych i oferowanych w Internecie produktów leczniczych w Europie. Jest to szczególna grupa leków, która stosowana jest bardzo często w celach pozamedycznych, głównie przez osoby uprawiające sport wyczynowy lub amatorski. Leki zawierające substancje aktywne stosowane w dopingiu dostępne są w aptekach wyłącznie na receptę lekarską, dlatego wiele osób nabywa je poza legalną siecią dystrybucji. Należą one do najczęściej fałszowanych



produktów, a nielegalne wytwórnice zlikwidowane w ostatnich latach w Polsce bardzo często zajmowały się właśnie taką produkcją. Ponieważ oferowane produkty zawierają najczęściej niezgodne z deklaracją ilości substancji aktywnych, wielokrotnie mniejsze lub nawet 2–3-krotnie większe, dodatkowo zwiększają zagrożenia dla zdrowia osób je stosujących. W 2020 roku opublikowano wyniki badań 1100 nielegalnych produktów z rynku UE, wykonanych przez akredytowane narodowe laboratoria sieci OMCL-Network, w których wykazano, że w 74% próbek zidentyfikowano niedeklarowane substancje, zaklasyfikowane jako anaboliki, w tym selektywne modulatory receptora androgenowego (SARM) czy środki pobudzające wydzielanie hormonu wzrostu.

Kolejnym bardzo istotnym problemem jest praktyczny brak nadzoru w państwach UE nad suplementami diety, w tym polecanymi dla sportowców. Ze względu na ich różnorodność funkcjonalną i strukturalną, złożoność matrycy oraz nowe związki syntetyczne i niewielkie ich ilości wymagane do wywołania efektu farmakologicznego, szczególnie ta kategoria produktów jest trudna do nadzorowania i jakościowego kontrolowania. Amerykańska Agencja ds. Leków i Żywności (FDA) opublikowała informacje i ostrzeżenia o wielu sfałszowanych suplementach diety, z czego ponad 80 zawierało SAA lub ich analogi strukturalne, niedeklarowane w składzie produktów. Oczywiście bardzo istotne w przypadku stosowania takich suplementów jest stwierdzenie, czy wykryty doping był świadomy czy nieświadomy.

Oceniana rozprawa i opisane w niej badania związane są ściśle z takimi problemami, w tym z przestępczością farmaceutyczną, a uzyskane wyniki pozwalają przynajmniej częściowo ocenić aktualną skalę zagrożenia dopingiem w sporcie wyczynowym oraz zagrożenia dla zdrowia osób wspierających się chemicznie w sportach amatorskich. Następujące zagadnienia Doktorantka przedstawiła w kolejnych częściach rozprawy:

- w części literaturowej: informacje dotyczące charakterystyki analizowanych związków, aktualny stan wiedzy na ich temat; obowiązujące wymogi prawne związane z dopingiem w sporcie; metody instrumentalne i immunochemiczne oraz procedury analityczne stosowane w laboratoriach antydopingowych akredytowanych przez WADA (presiewowe i potwierdzeniowe);



- w części doświadczalnej: wykaz certyfikowanych materiałów odniesienia i wzorców niezbędnych do potwierdzenia wiarygodności uzyskanych wyników; materiały niezbędne do oznaczania wybranych substancji psychotropowych we krwi i w moczu oraz markerów etanolu w moczu; przedstawiono też układy chromatograficzne oraz sposób przygotowania materiału biologicznego do badań;
- w części aparaturowej przedstawiono metody wybrane do badań analitycznych: chromatografię cieczową sprzężoną ze spektrometrią mas, LC-MS/MS, UPLC-MS/MS oraz LC-MS/MS ze źródłem UniSpray (do wykrywania glikokortykoidów).

Następna część rozprawy przedstawia kolejne etapy opracowania, udoskonalania i walidacji uniwersalnej metody przesiewowej, pozwalającej na identyfikację szerokiego spektrum substancji odurzających, psychotropowych oraz nowych substancji psychoaktywnych, zakwalifikowanych do różnych grup związków chemicznych. Przedstawiono również opracowywanie poszczególnych metod i procedur analitycznych, potwierdzanie ich skuteczność i przydatność oraz wiarygodności uzyskanych wyników, zgodnie z aktualnie obowiązującymi wymaganiami dotyczącymi jakości badań (norma PN-EN ISO/IEC 17025 i dokumenty techniczne WADA).

Rozprawa doktorska mgr inż. Marioli Wickiej, poza wartościami naukowymi i poznawczymi, które widoczne są między innymi w badaniach wpływu różnych czynników na możliwości wiarygodnego identyfikowania i oznaczanie wielu związków chemicznych w różnych matrycach organicznych, ma także szereg istotnych zalet praktycznych, bezpośrednio dotyczących sfery walki z dopingiem w sporcie oraz badań materiału dowodowego dla organów ścigania.

Podsumowując ocenę, należy stwierdzić, że Doktorantka podejmując ten temat podjęła się niezwykle trudnego metodycznie zadania, a opracowane przez nią procedury znalazły zastosowanie w bieżącej pracy Polskiego Laboratorium Antydopingowe. Szkoda jedynie, że marginalnie potraktowała zagadnienia toksykologiczne związane z wynikami badania tak wielu próbek moczu i krwi oraz zidentyfikowane zagrożenia dla zdrowia publicznego związane z tak powszechnym w Polsce zażywaniem substancji zwiększających wydolność organizmu.



Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim - stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego, zawiera elementy nowości naukowej oraz praktyczne zastosowanie wyników badań w obszarze walki z dopingiem w sporcie i w badaniach toksykologicznych. Zwracam się więc do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie Pani mgr inż. Marioli Wickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. n. farm. Zbigniew Fijałek

