

Em. prof. zw. dr hab. inż. Maciej Jarosz
Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska
ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa
(Emerytura nr 44/07/E/036231/18 od 1.03.2023)

Warszawa, 11.08.2023

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Wojtkowiak
„Oznaczanie małych peptydów za pomocą wysokosprawnej chromatografii
cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas w aspekcie badań antydopingowych”

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Wojtkowiak ma klasyczną strukturę dysertacji i jest poświęcona opracowaniu nowej (nowych) metodologii identyfikacji małych peptydów o masach cząsteczkowych mniejszych niż 2000 Da; a także substancji stosowanej jako środek dopingujący (heksareliny) i jej metabolitów za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową (i wysokorozdzielczą) spektrometrią mas z jonizacją poprzez elektrorozpraszanie. Obiekty badawcze sytuują zainteresowania Doktorantki w obszarze niezwykle istotnym dla rodzaju ludzkiego, w którym ściera się elementarna etyka ze słabościami mentalnymi (i nie tylko), a uczciwość konkuruje z pragnieniem osiągania sukcesu dzięki próbom poprawy wydolności organizmu ponad osobnicze możliwości dzięki stosowaniu substancji pobudzających (dopingujących) mechanizmy życiowe ponad ich normalny poziom. I to jeden aspekt wartości rozprawy. Drugi, już nie moralny, to aspekt naukowy. Doktorantka niezwykle skrupulatnie, zgodnie z wytycznymi Światowej Agencji Antydopingowej, prowadziła badania zmierzające do opracowania możliwie najbardziej wiarygodnych metod analitycznych do identyfikacji i oznaczania substancji dopingujących w płynach ustrojowych. Każdy etap postępowania był analizowany niezwykle starannie i optymalizowany zgodnie z regułami sztuki. Dzięki takiemu podejściu było możliwe wybranie działań i narzędzi ulepszających dotychczas stosowane metodologie.

Połączenie i rozpatrzenie obu powyższych aspektów – istotności pola badawczego i poziomu naukowego rozprawy - tworzy możliwość pełnego oszacowania całokształtu jej wartości. I dlatego już na tym wstępnym etapie przedstawiania oceny pozwalam sobie na wyrażenie opinii, że przedłożona do oceny praca wykonana pod kierunkiem Pań prof. dr hab. Ewy Bulskiej i dr hab. inż. Doroty Kwiatkowskiej wnosi

istotny wkład w stan wiedzy tak analitycznej, jak i z zakresu kontroli antydopingowej.

Ocenianą rozprawę doktorską Pani mgr Katarzyny Wojtkowiak stanowi opracowanie przedstawione na 215 stronach. Składa się ona z: zestawienia dorobku naukowego, wykazu stosowanych skrótów i akronimów (który pozwolił dalej na prawie całkowite wyeliminowanie terminów niepoprawnych lub dalekich od poprawnego języka polskiego - stosowanych (niestety) w praktyce laboratoryjnej), krótkiego wprowadzenia, wstępu teoretycznego, przedstawienia celu i zakresu pracy, części eksperymentalnej (recenzent pozwala sobie wyrazić opinię, że bardziej by mu odpowiadał termin „doświadczalnej”), zakończenia, wykazu tabel, wykazu rysunków, bibliografii (183 pozycje) i pięciu załączników.

Dorobek naukowy Doktorantki jest imponujący, jako że w okresie 2014-2022 opublikowała 8 prac oryginalnych (zestawienie nie zawiera, niestety, informacji „naukometrycznych”), 6 opracowań monograficznych oraz 21 streszczeń i materiałów pokonferencyjnych. Jak już wspomniano, aktywność publikacyjna jest godna docenienia, szkoda jednak, że Doktorantka nie wyodrębniła pozycji, które stanowiły podstawę rozprawy (niemniej z pewnością wspomni o nich w swoim wystąpieniu w trakcie publicznej obrony). Podkreślenia wymaga też fakt, że praca ma aspekt praktyczny – opracowanie metod analitycznych, ale także podstawowy – określenie profilu wydalania drogą nerkową produktów degradacji proteolitycznej heksareliny.

Wprowadzenie jest krótkim przewodnikiem po zawartości pracy, celnie punktującym elementy opracowania.

Wstęp teoretyczny (ponad 60 stron), może nieco zbyt obszerny, pozwala na prawidłowe przygotowanie czytelnika do świadomego odbioru opisu przeprowadzonych badań. W kolejnych rozdziałach Autorka przedstawia zjawisko dopingu i antydopingu, charakteryzuje obiekt badawczy – małe peptydy, omawia metody i techniki identyfikacji i oznaczania peptydów w materiałach biologicznych (ze szczególnym uwzględnieniem technik chromatograficznych sprzężonych ze spektrometrią mas) i kończy zapoznaniem czytelnika z wybranymi aspektami walidacji metod analitycznych. Jak już wspomniano, dobór omawianych zagadnień jest właściwy dla tematyki pracy, wart zauważenia może drobny, ale cenny fakt zamieszczania przypisów w stopkach przedstawiających wyjaśnienia lub definicje rzadziej spotykanych terminów. Nie wydaje się natomiast właściwe zamienne stosowanie różnych nazw tej samej kategorii substancji (środków dopingujących), m.in.: leki, substancje dopingujące, białka o właściwościach

terapeutycznych... Zaburza to klarowność konstrukcji opracowania stawiając w tej samej pozycji (formalnie) preparaty prozdrowotne i szkodliwe dla zdrowia środki dopingujące.

Rozdziały „Cel i zakres prac” oraz rozpoczynający część doświadczalną „Aparatura i odczynniki” precyzują założenia badań prowadzących do opracowania nowych metodyk analitycznych, przedstawiają stosowane techniki wydzielania (rozdzielania) i detekcji analitów, a także analizowane materiały.

Właściwy opis wykonanych badań rozpoczyna się od rozdziału 2 „Metody chromatograficzne i spektrometryczne”. Po przedstawieniu warunków pracy zestawu(ów) aparaturowego(ych) do rozdzielania analitów i ich detekcji Autorka szczegółowo opisuje postępowanie badawcze zmierzające do opracowania metod wykrywania peptydów o masach cząsteczkowych mniejszych niż 2000 Da w próbkach moczu. W ocenie „jakości” planowania i prowadzenia doświadczeń podkreślenia wymaga duża staranność wykonywania działań badawczych i rzetelne podejście do rozwiązywania zadań analitycznych, oparte na dogłębnej analizie dostępnych materiałów źródłowych (niestety, niekiedy zbyt dogłębnej, bo rozbudowana część literaturowa jest dodatkowo uzupełniana dyskusją materiałów źródłowych przed opisem każdego kolejnego kroku optymalizacyjnego). Opracowane postępowania są wartościowe, prawidłowo walidowane, jak tego wymaga sztuka analizy farmaceutycznej – charakteryzującej produkty o podstawowym znaczeniu dla zdrowia ludzkiego. Efektem ostatecznym działań w tym etapie są trzy metody dla różnych grup badanych substancji (podzielonych pod względem działania uwalniającego hormon wzrostu lub uwalniającego gonadotropinę; trzecie postępowanie pozwala na oznaczanie wszystkich badanych peptydów). Oceniając wartość uzyskanych wyników i opracowanych metodyk nie można nie wspomnieć o ich wdrożeniu do rutynowej praktyki w Polskim Laboratorium Antydopingowym – i tu znajdujemy aspekt praktyczny badań przedstawionych w rozprawie.

Druga jej część poświęcona jest zastosowaniu opracowanej (i dostosowanej do badania nowych analitów) metody do wyboru markerów doustnego stosowania heksareliny w próbkach moczu i krwi. Cel ten został osiągnięty – dzięki badaniom zaplanowanym i zrealizowanym równie starannie jak uprzednio. Niewątpliwą wartością dodaną działań w tym obszarze był ich aspekt poznawczy – określenia nerkowego szlaku metabolicznego heksareliny.

Rozprawę kończy podsumowujący rozdział „Zakończenie”, wykazy tabel i

rysunków, bibliografia i załączniki.

Zdaniem recenzenta do najważniejszych elementów nowości naukowej pracy zaliczyć można:

- dobór zoptymalizowanych sposobów przygotowania próbek, a przede wszystkim nowatorskie zastosowanie ekstrakcji do fazy stałej (SPE) do wydzielania analitów z badanych materiałów,
- opracowanie pełnych zwalidowanych metodyk identyfikacji i oznaczania substancji stosowanych jako środki dopingujące i ich metabolitów,
- opracowanie profili eliminacji heksareliny oraz jej metabolitów drogą nerkową.

Podsumowując pragnę stwierdzić, że praca jest przygotowana na ogół poprawnie technicznie i językowo. Znalezione niewielkie uchybienia, zwłaszcza nomenklaturowe i elementy „żargonu laboratoryjnego”, znajdujące się w opisie prac nie są warte dyskusji i nie umniejszają wartości rozprawy przedkładanej w celu uzyskania stopnia naukowego doktora. Stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Stwierdzam zatem, że przedstawiona do recenzji praca spełnia wymagania ustawowe i przedkładam Radzie Naukowej Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego wniosek o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Wojtkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Marek Jarosz