



Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny
Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej
90-924 Łódź, ul. Żeromskiego 116
tel. +48 42 631-30-91, fax +48 42 631-31-28



dr hab. inż. Joanna Kałużna-Czaplińska, prof. PŁ

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Justyny Piechockiej zatytułowanej

„Wysokosprawna chromatografia cieczowa wybranych pochodnych
endogennych tioli”

wykonanej w Katedrze Chemii Środowiska Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego

Promotorem pracy doktorskiej jest

dr hab. Rafał Głowacki, prof. UŁ

Wstęp

W badaniach metabolitów występujących w płynach ustrojowych człowieka ważną rolę pełnią techniki separacyjne: wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC), chromatografia gazowa (GC), elektroforeza kapilarna (CE) oraz zaawansowane techniki łączone ze spektrometrią mas. W głównej mierze chromatografia gazowa łączona ze spektrometrią mas (GC/MS) oraz chromatografia cieczowa łączona ze spektrometrią (LC/MS). W ostatniej dekadzie obserwowany jest ciągły wzrost zainteresowania wykorzystaniem technik chromatograficznych w badaniach z obszaru tzw. diagnostyki medycznej. Badania metabolitów są niezwykle ważne, ponieważ oprócz rozpoznania choroby mogą być także pomocne w wyborze odpowiedniej terapii, czy diety. Szczególnie poszukiwane są takie metody analityczne, które będą mogły znaleźć praktyczne zastosowanie do badania różnych matryc biologicznych tj. śliny, moczu, czy osocza.

Tematyka podjęta w rozprawie doktorskiej przez mgr Justynę Piechocką dobrze wpisuje się w ten obszar badań naukowych. Dotyczy bowiem opracowania nowych metod chromatograficznych z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną, które mogą być w przyszłości narzędziem analitycznym w badaniach relacji stężeniowych pomiędzy zawartością niskocząsteczkowych tioli w płynach ustrojowych u ludzi. Pragnę zaznaczyć, że przedstawione w rozprawie doktorskiej wyniki są ważne i aktualne. Doskonale wiem, jak wiele wysiłku i pracy wymagało od Doktorantki opracowanie nowych, precyzyjnych i dokładnych metod analitycznych.

Struktura i treść rozprawy doktorskiej

Recenzowana praca mgr Justyny Piechockiej jest przykładem rozprawy doktorskiej w nowej formie. Stanowi ją spójny tematycznie zbiór 4 artykułów naukowych, które zostały opatrzone stosownym opisem. Ponadto, został dołączony załącznik do publikacji, która ukazała się w czasopiśmie Talanta, określony jako Supplementary material. Na elementy tego opisu składają się: wprowadzenie, opis przeprowadzonych prac wraz z uzasadnieniem podjętych działań i literaturą. Całość stanowi 62 strony. Cytowana literatura obejmuje 109 pozycji naukowych polskich i zagranicznych, z przewagą tych drugich. W pracy, w części wprowadzenie został sprecyzowany cel i zakres prowadzonych badań. Choć w moim odczuciu ta część (cel i zakres) powinna znaleźć się jako osobny, wydzielony odpowiednio element rozprawy. Ponadto, w przedstawionym do recenzji materiale, znalazły się: naukowy życiorys Doktorantki, publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej (jako załączniki) oraz oświadczenia współautorów. Te ostatnie potwierdzają niepodważalny wkład pani mgr Justyny Piechockiej w badania. Pragnę zauważyć, że Doktorantka jest pierwszym, bądź drugim współautorem w pracach naukowych składających się na dysertację. Wprowadzenie, opis wyników, ich dyskusja oraz wnioski dotyczące otrzymanych rezultatów z powołaniem się na odpowiednie odnośniki literaturowe nie budzą zasadniczo moich wątpliwości.

Wykaz dorobku naukowego Doktorantki w mojej opinii jest bardzo dobry. Wskazuje na duże Jej zaangażowanie w pracę naukową i staranne, przemyślane dobieranie czasopism naukowych, pod kątem prezentowanych wyników badań. W załączonym wykazie są artykuły, które ukazały się w bardzo dobrych czasopismach

naukowych: Analytical and Bioanalytical Chemistry (Springer), Talanta (Elsevier), Acta Chromatographica oraz w polskim, specjalistycznym kwartalniku Analityka, który porusza aktualne problemy chemików-analityków. Liczne wystąpienia konferencyjne (19 konferencji międzynarodowych oraz 30 konferencji krajowych) potwierdzają także dużą naukową aktywność Doktorantki. Po drugie, imponująco wręcz, jak na tak młodą osobę przedstawia się jej doświadczenie zawodowe, na które składają się liczne staże naukowe i zawodowa praktyka laboratoryjna.

W części Wprowadzenie Autorka omówiła zagadnienia dotyczące zaburzeń metabolizmu homocysteiny i związków siarki z nią spokrewnionych takich jak: cysteina (Cys), glutation (GSH), cysteinylo-glicyna (Cys-Gly) oraz γ -glutamyl-cysteina (γ -GluCys) w kontekście chorób cywilizacyjnych z uwzględnieniem neurodegeneracyjnych (choroba Parkinsona i Alzheimer), a także chorób naczyniowo-sercowych. Zabrakło mi jednak informacji na temat potencjalnej roli homocysteiny w zaburzeniu jakim jest Spektrum Zaburzeń Autystycznych (ASD).

Cel badań został sformułowany czytelnie. Dotyczył opracowania nowych, precyzyjnych, dokładnych metod analitycznych z wykorzystaniem techniki HPLC-UV-Vis, które umożliwią oznaczenie aminokwasów tiolowych (Hcy, Cys, GSH, Cys-Gly, γ -GluCys) w ślinie, moczu, osoczu ludzkim. Pragnę jeszcze raz podkreślić, że realizacja założonego celu głównego i poszczególnych zadań badawczych, ze szczególnym uwzględnieniem specyficznego charakteru prowadzonych reakcji derywatywacji, spełnieniem zasad zielonej chemii i zminimalizowaniem kosztów analiz wymagało dużego eksperymentalnego wkładu pracy Doktorantki.

W części pracy dotyczącej opisu prowadzonych eksperymentów, szczególną uwagę zwrócono na:

- opracowanie odpowiednich procedur analitycznych, które umożliwią oznaczenia związków siarki w matrycy biologicznej z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną,
- zastosowanie starannie przemyślanych odczynników chemicznych, które mają minimalny, negatywny wpływ na środowisko naturalne.

Opracowanie materiału doświadczanego przez mgr Justynę Piechocką wskazuje na Jej dobre opanowanie planowania eksperymentów poprzedzających końcowe oznaczenie analitów. Podjęcie się trudu zwalidowania opracowanych metod

analizy przed ich wykorzystaniem do oznaczeń, wskazuje na dojrzałość Doktorantki w prowadzeniu badań naukowych.

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Za najbardziej wartościowe w przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej uważam opracowanie trzech nowych procedur analitycznych umożliwiających oznaczenie poziomu stężeń:

- Cysteiny i Homocysteiny w próbkach osocza w postaci tiazynowych i tiazolidynowych pochodnych,
- Cysteiny i Cysteinylo-glicyny w próbkach moczu i osoczu ludzkim w postaci 2-S-chinoliniowych pochodnych,
- Homocysteiny, glutationu zredukowanego, γ -Glutamilo-cysteiny, Cysteinylo-glicyny, N-acetylo-cysteiny oraz Cysteiny w próbkach śliny, moczu i osocza człowieka w postaci 2-S-lepidyniowych pochodnych.

Niewątpliwie, na wysoka ocenę zasługuje oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, czyli wykazanie przydatności fosforanu 5'-pirydoksalu (PLP) jako efektywnego i specyficznego odczynnika derywatyizującego tiole.

Ważnym elementem tej rozprawy doktorskiej jest potencjalny charakter aplikacyjny opracowanych metod analitycznych oraz ich aspekt ekonomiczny i ekologiczny.

Uwagi

Recenzent poza oczywistym podkreśleniem walorów i zalet pracy ma także obowiązek wskazania pewnych błędów, uwag i postawienia pytań, co poniżej czynię. Praca mgr Justyny Piechockiej jest przygotowana starannie, tabele, rysunki, schematy i znajdujące się opisy są czytelne, choć zdarzają się błędy w tekście (np. str. 16 jest „...na biologicznie aktywną formą witaminy B6...”, powinno być : „...na biologicznie aktywną formę witaminy B6...”, czy str. 44 „...jest w zgodzie ze standardowymi procedurami, powinno być: „...w zgodzie ze standardowymi procedurami”). Ponadto, bardzo utrudniają czytanie pracy, zbyt długie zdania, które czasami mają po 8,9 linijek (np. str. 10,11, 28, czy 51). Zupełnie bez strat dla walorów pracy można było zastosować zdania pojedyncze, bądź tylko podwójnie

złożone. Utrudnia czytanie pracy brak przecinków, przy zdaniach wielokrotnie złożonych w pewnym stopniu znaki interpunkcyjne ułatwiłyby czytanie pracy.

Zaprezentowane wyniki badań w nowej formie rozprawy podobają mi się, choć mam zastrzeżenia co do części pracy - cel i zakres. W moim odczuciu, ta część pracy mogłaby być lepiej zaprezentowana (wyróżniona).

Wśród innych niedociągnięć w pracy, uwag dyskusyjnych i merytorycznych trzeba wymienić:

- Wykaz skrótów na początku rozprawy jest niekompletny, brak wyjaśnienia m.in. skrótu Cys 34, ponadto część skrótów wyjaśniana jest w tekście, a część podana na początku w wykazie (rodzi się pytanie według jakiego klucza dokonano tego wyboru?),
- Raczej powinno unikać się sformułowań, które mogą być opacznie zrozumiane, jak np.: „odbiegającym od normy” (str.7), „wstępnej obróbce” (str.13),
- Proszę o wyjaśnienie zdania ze str. 10 „...właściwości toksyczne względem organizmów żywych i/lub korozyjne....” ,
- Proszę rozwinąć zdanie (dokończyć zdanie), które znalazło się na str. 13, na końcu pierwszego akapitu „...z biologicznego jak i klinicznego punktu widzenia związków stawiane są coraz to wyższe wymagania” , czyli jakie?
- Proszę rozwinąć zdanie (dokończyć zdanie), które znalazło się na str. 19, czwarta linijka od góry „...tworzenia pożądaných produktów...”, czyli jakich?
- Co rozumie pani przez większą przepustowość w kontekście metod analitycznych (str.15),
- Czy poziomy stężenie analitów były przeliczane na kreatyninę?
- Proszę o rozwinięcie zagadnienia obecności GSH w moczu, na bazie pani naukowych doświadczeń.

Podsumowanie recenzji

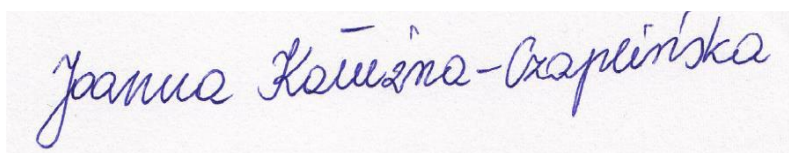
Stwierdzam, że mgr Justyna Piechocka wykazała się wiedzą w aktualnej i ważnej tematyce będącej przedmiotem rozprawy doktorskiej. Wskazane w recenzji błędy i uwagi nie umniejszają wartości dysertacji. Ponieważ, ze względów

formalnych ta praca doktorska nie może zostać wyróżniona, dlatego nie wnoszę tej prośby w recenzji.

Praca spełnia warunki określone w art.13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. z 2003 r., nr 65 poz. 595 wraz z późniejszymi zmianami).

Wniosek końcowy

Podsumowując, recenzowana rozprawa mgr Justyny Piechockiej zatytułowana „Wysokosprawna chromatografia cieczowa wybranych pochodnych endogennych tioli” spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim, wnoszę o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Joanna Kucińska-Czaplińska

Łódź, 23 stycznia 2018 roku