



UNIWERSYTET W BIAŁYMSTOKU
Wydział Biologiczno-Chemiczny
INSTYTUT CHEMII

15-245 Białystok, ul. Ciołkowskiego 1K, ☎/ fax (-48-85) 738-8052; e-mail: chemia@uwb.edu.pl

Białystok, 21.12.2018

prof. Joanna Karpińska
Zakład Chemii Środowiska
Instytut Chemii

Recenzja rozprawy doktorskiej pani mgr Katarzyny Mioduszewskiej p.t. „Ocena sorpcji i mobilności wybranych leków przeciwnowotworowych w środowisku glebowym” przygotowanej pod kierunkiem prof. Piotra Stepnowskiego

Podstawą do przygotowania recenzji rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Mioduszewskiej jest pismo dr hab. Zbigniewa Kaczyńskiego, prof. UG prodziekana ds. nauki Wydziału Chemii UG z dnia 4 grudnia 2018 roku (8010-WCH/KC-2343/18).

W ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się obecności związków organicznych pochodzenia antropogenicznego w różnych elementach środowiska przyrodniczego, głównie w wodach powierzchniowych. Jedną z grup, której występowanie w środowisku jest obiektem badań analityków, toksykologów i innych specjalistów, są pozostałości środków leczniczych. O wadze tego problemu świadczy ogromna liczba artykułów ukazujących się rokrocznie w czasopismach naukowych o obiegu międzynarodowym. Ich analiza pokazuje, że większość z nich jest poświęcona obecności i przemianom pozostałości farmaceutyków w różnego rodzaju wodach powierzchniowych. Występowanie związków biologicznie czynnych w glebach i ich transformacje są problemem słabiej rozpoznanym.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Katarzyny Mioduszewskiej p.t. „Ocena sorpcji i mobilności wybranych leków przeciwnowotworowych w środowisku glebowym” stanowiąca podstawę uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych w zakresie chemii, wpisuje się w ten nurt współczesnej analityki chemicznej. Praca jest kontynuacją badań realizowanych w Katedrze Analiz Środowiska kierowanej przez promotora rozprawy prof. Piotra Stepnowskiego,

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Mioduszewskiej ma formę monografii. Jest przygotowana bardzo starannie z niewielką liczbą błędów językowych (np. naważka, zaszczepianie

próbki kadmem), interpunkcyjnych czy zwykłych literówek, które z obowiązku recenzenckiego zwróciły moją uwagę.

Podzielona została na kilka części przedstawionych na 122 stronach maszynopisu. Rozpoczyna ją wstęp, zawierający ogólne uzasadnienie podjętego tematu oraz procedury badawcze wykorzystane do realizacji celu pracy.

W części literaturowej (29 stron) w sposób zwięzły Doktorantka przybliżyła problemy związane z chorobami nowotworowymi, częstością ich występowania, krótką historią rozwoju badań nad diagnostyką, czynnikami sprzyjającymi ich rozwojowi, stosowanymi chemioterapeutykami oraz informacje na temat globalnej produkcji i konsumpcji leków przeciwnowotworowych. Rozdziały 2.3 i 2.4 poświęcone są problemowi obecności leków, ze szczególnym uwzględnieniem leków przeciwnowotworowych, w różnych elementach środowiska. W kolejnych częściach Autorka omówiła czynniki środowiskowe (budowa mineralna, udział poszczególnych frakcji gleby i ich granulacja, odczyn, pojemność jonowa oraz zawartość materii organicznej) wpływające na sorpcję i mobilność zanieczyszczeń chemicznych w glebach oraz stosowane do oceny sorpcji modele matematyczne. W tym miejscu mam pytanie dotyczące równań 7 i 8 (str. 24), które wydają się być identyczne. Wielkości C_s i c_s oraz C_w i c_w są tak samo zdefiniowane w obu równaniach, tak więc czy jest to powtórzenie tego samego równania, czy też jakiś błąd drukarski?.

W następnych rozdziałach, Doktorantka przedstawiła stan wiedzy dotyczący podatności na biodegradację leków przeciwnowotworowych. Skupiła się na lekach będących obiektem podjętych przez Nią badań. Spośród szeregu leków przeciwnowotworowych mgr Mioduszevska wybrała do swoich badań cztery najczęściej stosowane leki przeciwnowotworowe: cyklofosfamid (CF), ifosfamid (IF), 5-fluorouracyl (5-FU) oraz metotreksyd (MTX). Dodatkową motywacją była ich trwałość oraz wysoka aktywność biologiczna.

Kolejny rozdział został poświęcony przedstawieniu narzędzi analitycznych wykorzystywanych do monitoringu obecności i przemian leków w różnych elementach środowiska. W tym krótkim przeglądzie został przez Autorkę podkreślony duży wkład Katedry Analiz Środowiska Wydziału Chemii UG w rozwój procedur analitycznych pozwalających na oznaczanie pozostałości farmaceutyków w próbkach środowiskowych (od próbek wodnych po tkanki zwierzęce). Trochę jednak szkoda, że nie zostały również zacytowane artykuły nowsze z lat 2017-18 (może nie było takich o tej tematyce, ale w rozdziale 2.7 nie ma o tym informacji). Ostatni

rozdział części literaturowej dotyczy oceny ryzyka środowiskowego związanego z obecnością leków w środowisku.

Część eksperymentalną poprzedza rozdział zawierający zwięzłe przedstawienie głównego celu badań oraz cele szczegółowe, których realizacja była konieczna do oceny mobilności badanych leków przeciwnowotworowych w środowisku glebowym.

Część eksperymentalna składa się z dwóch rozdziałów. Rozdział czwarty (20 stron) zawiera charakterystykę badanych leków oraz użytych matryc (pięć próbek gleb, dwie próbki gleb standaryzowanych, osad ściekowy), wykaz stosowanych odczynników oraz szczegółowy opis procedur badawczych. Do oceny sorpcji i mobilności wykorzystano testy statyczny i dynamiczny. W teście statycznym zbadano wpływ pH i siły jonowej oraz wpływu zanieczyszczeń na proces sorpcji. W tym celu próbki gleb wzbogacano w kadm (trzy poziomy stężenia) lub w metoprolol. Ciekawe byłoby sprawdzenie jak przebiega sorpcja badanych leków, gdy w układzie znajdują się wszystkie cztery związki (CF, IF, 5-FU i MTX). Natomiast w opisie testu dynamicznego powinno być wyraźniej podkreślone, czy badana gleba była mieszana z 60 mg porcją suchej odważki związku, czy z 60 mg roztworu. W procedurze respirometrycznego pomiaru biochemicznego zapotrzebowania tlenu powinny być zamieszczone informacje dotyczące składu użytej pożywki. - Rozdział czwarty zawiera również charakterystykę analityczną opracowanej przez Doktorantkę metody HPLC UV oznaczania testowanych leków oraz parametry chromatograficzne metody LC-MS wykorzystanej do badania produktów degradacji metotreksatu. Przedstawione zostały zarejestrowane w optymalnych warunkach chromatogramy roztworów wzorcowych. W podpisach rysunków przydałaby się informacja o stężeniach użytych roztworów.

W sumie Autorka opracowała trzy niezależne metody HPLC-UV wykorzystane do oznaczania cyklofosfamidu (CF), ifosfamidu (IF), 5-fluorouracylu (5-FU) i metotreksydu (MTX). Rozumiem, że różnice we właściwościach fizykochemicznych badanych analitów nie pozwalały na opracowanie chromatograficznej metody ich jednoczesnego oznaczania. Rozdział piąty (47 stron) poświęcony jest omówieniu uzyskanych wyników i wnioskom.

W początkowej fazie prac Doktorantka określiła parametry fizykochemiczne użytych gleb takie jak kwasowość czynna i wymienna, powierzchnia właściwa, kationowa pojemność wymienna, zawartość materii organicznej i składników nieorganicznych oraz udział frakcji pyłowych i piaskowych. Korelację pomiędzy zawartością materii organicznej a powierzchnią właściwą przedstawiła na rysunku 6. Na rysunku tym niestety zabrakło symboli gleb do których odnoszą się uzyskane słupki, co utrudnia porównanie danych w Tabeli 13 z ich wizualizacją (Rys. 6).

Następnie Autorka podjęła się wyjaśnienia istniejących w literaturze rozbieżności dotyczących oceny właściwości kwasowo-zasadowych badanych leków. Do tego celu wykorzystwała metody chromatograficzne oraz miareczkowanie potencjometryczne. Znajomość równowag ustalających się w określonych warunkach środowiskowych jest niezwykle istotna do oceny mobilności danego związku organicznego w środowisku glebowym. Uzyskane wyniki pozwoliły na przedstawienie zależności stężeń danej formy chemicznej od pH oraz na wyznaczenie stałych równowag kwasowo-zasadowych. Ta część pracy stanowi bez wątpienia nowość naukową i jest istotnym przyczynkiem do zrozumienia procesów sorpcji i mobilności badanych leków w środowisku glebowym. Pomimo starannej analizy uzyskanych wyników Doktorantka nie uniknęła sformułowań nieco niefortunnych, np. (str 70) „Można przypuszczać, że te dwa podobne związki, poniżej pH 2,5 zyskują proton na cząsteczce i dysocjują w roztworze wodnym dając OH⁻„. Czy to oznacza, że pH rośnie? Proszę o wyjaśnienie tego stwierdzenia.

W kolejnych rozdziałach zostały przedstawione wyniki testów sorpcji w układzie statycznym i dynamicznym. Na podstawie dopasowania badanych modeli stwierdziła, że dla większości badanych układów sorpcja zachodzi zgodnie z modelem izotermi Freundlicha. Test dynamiczny pozwolił na ocenę mobilności badanych leków. Stwierdzono, że czas życia leku w środowisku glebowym zależy od jego właściwości adsorpcyjnych, rodzaju gleby oraz obecności współzanieczyszczeń. Do tej części nie mam istotnych zastrzeżeń. Może czytelniejsze byłyby wykresy liniowe izoterm sorpcji zamiast użytych punktowych.

Badania podatności na biodegradację potwierdziły wysoką trwałość trzech z czterech testowanych leków. W tej części brakuje mi podjęcia próby identyfikacji, chociażby na podstawie dostępnej literatury, produktu biodegradacji MTX. Również nie zamieszczono informacji, czy w przypadku pozostałych trzech leków obserwowano na chromatogramach powstawanie produktów biodegradacji.

Ostatni rozdział pracy zawiera podsumowanie uzyskanych wyników. Zabrakło mi w tej części wniosków dotyczących czasu przebywania badanych leków w środowisku glebowym oraz ich ewentualnych dalszych przemian i migracji, które bardzo ładnie podsumowałyby przeprowadzoną pracę.

Reasumując, chciałabym podkreślić, że zamieszczone w mojej recenzji uwagi krytyczne nie umniejszają wartości tej pracy. Chciałabym aby były przyczynkiem do dyskusji i podjęcia kolejnych badań. Poza tym jestem pod wrażeniem ilości przeprowadzonych pomiarów, która wydaje się olbrzymia.

Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki zaliczam:

- potwierdzenie istnienia różnych form badanych leków w zależności od pH i wyjaśnienie wątpliwości dotyczących ich stałych protonowania;
- podjęcie próby wyjaśnienia mechanizmów sorpcji badanych leków w środowisku glebowym i dopasowania odpowiedniego modelu izoterm;
- potwierdzenie mobilności CF i IF;
- potwierdzenie mobilności leków w kontakcie z osadem czynnym;
- zbadanie wpływu pH, mocy jonowej, współzanieczyszczeń oraz cech fizykochemicznych gleb na przebieg sorpcji leków;

Odzwierciedleniem nowości naukowej i efektywności podjętych zadań są publikacje w bardzo dobrych międzynarodowych czasopismach naukowych (IF=12,605). Ponadto pani mgr Katarzyna Mioduszevska jest współautorką ośmiu innych publikacji z listy filadelfijskiej. Biorąc pod uwagę pozostałe dobre dane bibliometryczne Doktorantki (indeks Hirsha 6 i ponad 120 cytowań) należy docenić Jej trud włożony w opisanie wyników w formie tradycyjnej a nie jako komentarz do cyklu publikacji. Istotnym sukcesem Autorki ocenianej rozprawy było kierowanie projektem finansowanym z Narodowego Centrum Nauki, w ramach konkursu Preludium. Lektura prezentowanej pracy sprawiła mi bardzo dużą przyjemność.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Katarzyny Mioduszevskiej spełnia, w moim przekonaniu, wszelkie ustawowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim (Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki, Dz. U. nr 65, poz. 595, z późn. zm. oraz Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dn. 26 września 2016 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora, Dz. U. 2016, poz. 1586). W związku z tym wnoszę do wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. W świetle całkowitego dorobku naukowego oraz w kontekście wartości przedstawionych wyników naukowych składam również wniosek o wyróżnienie przedstawionej rozprawy doktorskiej.

prof. Joanna Karpińska



Białystok, 21. 12. 2018