



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



Prof. dr hab. inż. Joanna Kałużna-Czaplińska

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Kurpet

*„Wykorzystanie chromatografii cieczowej do oznaczania
niskocząsteczkowych związków tiolowych oraz białek obecnych
w osoczu w wybranych stanach patofizjologicznych”*

wykonanej w Katedrze Chemii Środowiska UŁ
Promotorem pracy doktorskiej jest
Dr hab., Grażyna Chwatko, prof. uczelni

Ocena wyboru tematyki badawczej

Tematyka podjęta w rozprawie doktorskiej przez mgr Katarzynę Kurpet dotyczy opracowania nowych metod analitycznych o wysokiej selektywności, precyzji i czułości do ilościowego oznaczania niskocząsteczkowych związków tiolowych oraz wybranych białek w próbkach biologicznych z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z różnymi wariantami detekcji (detekcji fluorescencyjnej oraz rozpraszania światła przez odparowanie).

Uważam, że zagadnienia poruszane w rozprawie doktorskiej są ważne, aktualne i dobrze wpisują się w bieżące potrzeby naukowe związane z poszukiwaniem metod diagnostycznych skutecznych w identyfikacji biomarkerów różnych chorób, w tym chorób związanych z układem krążenia oraz chorób

reumatycznych o podłożu zapalnym. Ponadto, badania mogą być wykorzystane do wykrywania wielu zmian patologicznych już na ich wczesnym etapie występowania, co jest kluczowe w spersonalizowanym podejściu do leczenia pacjentów. Na szczególne pokreślenie zasługuje fakt współpracy naukowej w zakresie medycznych eksperymentów Doktorantki z ośrodkami medycznymi, w tym z Zakładem Medycyny Rodzinnej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, Kliniką Chorób Wewnętrznych i Farmakologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz Kliniką Reumatologii z Pododdziałem Chorób Wewnętrznych Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego nr 2 Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Ocena formalna i merytoryczna rozprawy

Recenzowana praca Pani mgr Katarzyny Kurpet jest przykładem rozprawy doktorskiej realizowanej w formie tradycyjnej i składa się z części teoretycznej, celu i zakresu pracy, części eksperymentalnej, dyskusji, omówienia wyników i wniosków uzasadniających celowość podjętych badań oraz bibliografii. W rozprawie znalazł się wykaz skrótów, streszczenie w języku polskimi oraz angielskim. Został także dołączony dorobek naukowy i organizacyjny Doktorantki, który oceniam bardzo dobrze. Z załączonego materiału jasno wynika, że udział Pani mgr Katarzyny Kurpet w pisaniu publikacji był znaczący. Natomiast działalność w projektach, dydaktyce i popularyzacji nauki oceniam jako imponującą, jestem pod dużym wrażeniem tej części dorobku Doktorantki.

Całość rozprawy stanowi 218 stron drukowanych dwustronnie, cytowana literatura obejmuje łącznie 271 pozycji naukowych zagranicznych i polskich, z przewagą tych pierwszych. Wstęp, opis wyników, dyskusja, wnioski dotyczące otrzymanych rezultatów z powołaniem się na odpowiednie odnośniki literaturowe oraz podsumowanie nie budzą moich wątpliwości. W części teoretycznej Doktorantka bardzo jasno przybliżyła zagadnienia dotyczące związków tiolowych, ich właściwości, klinicznego znaczenia oraz charakterystyki wybranych białek osocza. Czytałam tę część z dużym zainteresowaniem, zaciekawieniem i przyjemnością. Zebrany materiał był doskonałym wprowadzeniem do dalszych części dysertacji.

Cel badań został sformułowany czytelnie i dotyczył opracowania metod analitycznych służących do ilościowego oznaczenia związków siarki i wybranych białek osocza w próbkach biologicznych z zastosowaniem techniki HPLC z detekcją

fluorescencyjną i rozpraszania światła przez odparowanie.

W rozprawie wskazano także cele dodatkowe związane z trzema metodami oznaczania niskocząsteczkowych tioli osocza (Cys, Hcy, Cys-Gly, α -LA, GSH, NAC) obok HSA oraz wybranych analitów białkowych, a także różnych form redoks pięciu związków tiolowych osocza, w tym homocysteiny, cysteiny, glutationu, cysteinyloglicyny oraz γ -glutamilo-cysteiny (Hcy, Cys, GSH, Cys-Gly oraz γ -Glu-Cys).

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt wykorzystania opracowanych metod w diagnostyce i praktyce laboratoryjnej. Chcę wyraźnie zaznaczyć, że realizacja założonego celu głównego i poszczególnych zadań badawczych, ze szczególnym uwzględnieniem walidacji, optymalizacji procedur przygotowania próbek biologicznych wymagały od Doktorantki bardzo dużego eksperymentalnego nakładu pracy i wielu godzin spędzonych w laboratorium, co jako analityk bardzo doceniam.

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

- opracowanie odpowiednich procedur analitycznych, związków tiolowych oraz białek osocza, które dostarczyły informacji na temat ich roli w ocenie ryzyka sercowo-naczyniowego w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów oraz odpowiedzi organizmu na zakażenie SARS-CoV-2 i szczepienie przeciwko COVID-19,
- analizy statystyczne pokazujące istotne różnice w poziomach stężeń badanych wskaźników między grupami pacjentów a zdrową grupą kontrolną.

W moim odczuciu za najbardziej wartościowe w przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej uważam:

- opracowanie nowych metod analitycznych umożliwiających równoczesne oznaczenie wielu związków endogennych o różnych właściwościach fizykochemicznych, dodatkowo w zgodzie z zasadami zielonej chemii,
- ocenę opracowanych metod pod kątem wysokiej selektywności, precyzji i czułości,

- ważnym elementem rozprawy doktorskiej jest także potencjalny aplikacyjny charakter opracowanych metod analitycznych w diagnostyce chorób sercowo-naczyniowych.

Uwagi

Recenzent oprócz podkreślenia zalet dysertacji ma także obowiązek wskazania pewnych błędów, uwag i postawienia pytań, co przedstawiłam poniżej.

Praca jest przygotowana starannie, tekst, tabele, rysunki i znajdujące się opisy są czytelne, choć zdarzają się drobne niedociągnięcia (np. w moim odczuciu w celu głównym pracy, str.47 zdanie „*stworzenie zaawansowanych narzędzi analitycznych*” zastąpiłabym sformułowaniem opracowanie zaawansowanych narzędzi analitycznych). Tytuły poszczególnych rozdziałów raczej bym skróciła, np. str. 49 (rozdział 3), str. 139 (rozdział 5), tak aby nie zajmowały znacznej części strony. Raczej zamiast wyrażenia „*wykluczenia uczestnika z badania*” proponuję użycie zdania wyłączenia uczestnika z badania (np. str. 54). Podtytuł zieloność metody (np. str. 127) kojarzy mi się z „niedojrzałością” metody, może warto byłoby zastosować inny zwrot, np. przyjazny dla środowiska lub zgodny z zasadami zielonej chemii.

Zaprezentowane wyniki badań w klasycznej formie rozprawy podobają mi się, choć mam pewne uwagi i pytania do Doktorantki:

- proszę o wyjaśnienie co należy rozumieć pod wyrażeniem kategoria badanych osób (str.54, podtytuł 3.1.6.1),
- skąd pomysł na wybór n-oktanolu w reakcji redukcji tioli osocza za pomocą NaBH_4 ?
- Czym był podyktowany wybór metod, które posłużyły do oceny ekologiczności procedur analitycznych?
- Czy próbowała Pani zastosować opracowane metody do innych matryc biologicznych?
- Jakie widzi Pani największe zalety i ograniczenia stosowania techniki HPLC w tych badaniach?

- Złagodziłabym wniosek 6 w rozdziale Podsumowanie i Wnioski końcowe na temat uzyskanych statystycznych wyników, ponieważ eksperymenty doświadczalne wykonane były dla licznie małych grupach.

Podsumowanie recenzji

Stwierdzam, że mgr Katarzyna Kurpet wykazała się wiedzą w aktualnej i ważnej tematyce będącej przedmiotem rozprawy doktorskiej. Wskazane w recenzji błędy i uwagi nie umniejszają wartości dysertacji. Praca spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (aktualne odniesienie do aktu prawnego - tekst jednolity: Dz.U z 2022 r. poz. 574 z późn. zm.).

Wniosek końcowy

Podsumowując, recenzowana rozprawa mgr Katarzyny Kurpet zatytułowana *„Wykorzystanie chromatografii cieczowej do oznaczania niskocząsteczkowych związków tiolowych oraz białek obecnych w osoczu w wybranych stanach patofizjologicznych”* spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim, zatem wnoszę o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Janina Kucińska-Ozapłowska

Łódź, 16 czerwca 2025 roku