

Ocena

rozprawy doktorskiej P. mgr farm. Karoliny Wanat wykonanej na
Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, p.t.
„Dane chromatograficzne i właściwości fizykochemiczne w prognozowaniu
zdolności przenikania leków i innych związków chemicznych do mleka
matki”

Oceniana rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Chemii Analitycznej Katedry Chemii Medycznej, a jej Autorka pracuje w tym Zakładzie na stanowisku asystenta.

Po podaniu listy skrótów i jednostronicowym „Wprowadzeniu” prezentowana jest część teoretyczna rozprawy (str. 11-38), w której omówiono (1) farmakoterapię w okresie laktacji, (2) białka osocza krwi, (3) wpływ wiązania z białkami na dystrybucję leków przez bariery organizmu oraz (4) metody chemometryczne.

(ad. 1.) Omówione zostały składniki mleka kobiecego oraz etapy laktacji i (ad. 2) sposoby przenikania leków do mleka matki i ich uzależnienia od masy cząsteczkowej, lipofilowości, wiązania z białkami oraz od pKa, a także klasyfikacje leków pod względem ryzyka stosowania w okresie laktacji ((klasyfikacja Hale’a i baza LactMed) i stosunek stężenia leku w mleku do stężenia w osoczu (stos. M/P). Dalej (ad. 3) scharakteryzowano wiązanie leków z białkami, z dokładniejszym opisem tych ostatnich oraz ich funkcji i pokonywania barier biologicznych (błony komórkowe, bariera krew-mózg, bariera łożyskowa). Ostatni podrozdział (ad. 4) obejmuje charakterystykę badań leków *in silico* (QSAR i QSPR) i farmakokinetykę leków (właściwości wchłaniania, dystrybucji, metabolizmu i wydalania), jak również metody statystyczne stosowane w badaniach tego typu.

Z kolei, na str. 40-135 znajduje się część doświadczalna, w której sformułowano cele pracy (str. 40) oraz opisano przeprowadzone badania chromatograficzne (str. 41-51) metodami chromatografii cienkowarstwowej w normalnym i odwróconym układzie faz oraz metodami wysokosprawnej chromatografii cieczowej na kolumnach z immobilizowaną

ludzką albuminą osocza, a także sztuczną membraną, stosując odpowiednie układy faz ruchomych. Wyniki badań oceniano metodami analizy statystycznej.

Na stronach 53-135 obszernie omówione są badania własne oparte na matematycznym modelowaniu uzyskanych wyników dla badanych związków oraz na ich statystycznej ocenie.

Wnioski z przeprowadzonych badań i obliczeń przedstawiono na ponad dwóch stronach tekstu (str. 136-138). Potwierdzono celowość stosowania danych chromatograficznych w badaniu wiązania leków z białkami i przenikania leków o różnych właściwościach do mleka matki. Stwierdzono, że dane chromatograficzne i biologiczne lepiej charakteryzują zagrożenie przenikania leków do mleka matki niż właściwości fizykochemiczne tych leków. Analiza głównych składowych (PCA) pozwoliła określić znaczenie poszczególnych badanych parametrów na ten proces.

Dalej następują: streszczenia pracy w języku polskim (str. 139-140) i angielskim (str. 141-142), tabele z strukturami i nazwami badanych związków w poszczególnych grupach (kwasowe, zasadowe i obojętne i tzw. związki z grupy zewnętrznej) oraz tabele z liczbowymi danymi biologicznymi, fizykochemicznymi i chromatograficznymi tych związków. To dopiero z tych tabel można dobrze ocenić jak wiele pracy doświadczalnej poświęciła Autorka na realizację badań opisanych w rozprawie.

Pracę kończą: cytowane piśmiennictwo (str. 189-201) obejmujące 155 pozycji, trafnie dobranych i cechujących się w znakomitej większości wysokim stopniem aktualności. Pozycje te zawierają tytuły prac i odpowiednie dane bibliograficzne (z drobnymi wyjątkami wykazanymi niżej). Kolejne strony zawierają: wykaz 44 tabel (str. 202-203) i 39 rysunków (str. 204-206) oraz wykaz 6 pozycji prac (str. 207) i 3 komunikatów naukowych (str. 208) z współautorstwem (5 prac) i samodzielnym autorstwem (1 praca) Doktorantki podanych przez Nią jako osiągnięcia w pracy naukowo-badawczej. Dorobek ten budzi szacunek i uznanie z uwagi na stosunkowo krótki czas jego uzyskania (lata 2017-2021), publikację w języku angielskim (5 prac) zapewniającą międzynarodową dostępność, wreszcie wysoki poziom znakomitej większości czasopism (5 prac) potwierdzony wskaźnikami naukowymi (współczynnikiem wpływu – impact factor i punktacją MNiSW).

Jak wynika z powyższego, bardzo skrótowego przedstawienia pracę można uznać za obszerną i zawierającą wszystkie elementy publikacji tego typu. Można oczywiście dyskutować, czy wspomniane wyżej badania chromatograficzne nie powinny być prezentowane po tytule „badania własne” a nie przed nim, ale nie ma to istotnego znaczenia.

Warto natomiast podkreślić, że sformułowana jako cel pracy analiza przenikania ksenobiotyków do mleka kobiecego i stworzenie modeli ilościowych zależności pomiędzy strukturą tych związków a ich właściwościami w tym procesie może mieć bardzo ważne znaczenie praktyczne dla potomstwa karmionego mlekiem matek stosujących farmakoterapię.

Autorka wykazała bardzo zaawansowaną znajomość prezentowanej tematyki zarówno w jej aspektach teoretycznych, w oparciu o właściwie wykorzystane piśmiennictwo, jak i praktycznych – w realizacji badań chromatograficznych, ilościowego oznaczania wiązania leków z białkami, wreszcie szeroko stosowanych różnych metod analizy statystycznej.

Wywody są bardzo dobrze ilustrowane odpowiednimi rysunkami, równaniami i wzorami matematycznymi i chemicznymi, a dane liczbowe są trafnie zgrupowane w tabelach.

Po zapoznaniu się z pracą stwierdzam, że nie napotkałem w niej błędów merytorycznych i metodycznych, natomiast dostrzegłem pewne uchybienia edycyjne, które pragnę teraz przedstawić. Należą tutaj błędy typowo drukarskie, a więc tzw. literówki, z których najbardziej rzuca się w oczy brak litery w tytule na stronie 10 (analogiczny w spisie treści). Podobne braki to chyba: (str. 44, w.1/2g „z”) „...RM, związany Rf,...” czy (str. 58, w.13g „l”) „...jako odpowiedzialne za dystrybucję leku...”. Literowy nadmiar stwierdziłem na stronie 30 w. 6g we fragmencie „...lek pod wniknięciu...” natomiast błędną literę można znaleźć na str. 31 w. 15g: „ do innych kompartmentów...”. Czy w tej części zdania (str. 85, w. 6 d) „Ta część pracy na celu...” nie brakuje „ma”? Mam wątpliwości co do podkreślonego sformułowania na str. 36 „W przypadku wielu zmiennych niezależnych analizowanych na raz, aby sprawdzić ich wpływ...”. Czy nie chodzi tu o „razem” czyli pisane łącznie? Na str. 56, w.5d w „R = 0,40, zamiast końcowego przecinka powinna być kropka, podobnie na str. 100, w.6d w „...R² = 0,80,”.

W ostatnim zdaniu na str. 12 zamiast słów „zapobiega” i „obniża ryzyko” właściwsze chyba są „zapobieganie ” i „obniżanie ryzyka”. Zamiast słowa „Obserwacja” rozpoczynającego zdanie na str. 113 w.3g poprawniejszą wydaje mi się jego liczba mnoga będąca w zgodzie z dalszą częścią zdania. Na str. 119, w.4d brak jęczyczka przy „a” w „...czyli maksymalna korelację...”.

Kolejne uwagi dotyczą zauważonych przez mnie pewnych niekonsekwencji. W wykazie skrótów (str. 7) BSA tłumaczone jest jako „bydłęca albumina osoczkowa”, natomiast właściwszy (wg mnie) termin to „(osocze krwi krowiej (BSA).” (str. 56, w.14g) stosowane także dalej (str. 67. w.4d; str. 106, w.5g).

W tabelach brak jest kropek po ich tytułach, a w wielu tabelach tytuły poszczególnych kolumn pisane są z małej litery (np. Tabela 1, str. 12, Tabela 2, str. 15, Tabela 6, str. 50), a

także duże litery występują zmiennie (np. Tabela 8 str. 61). Pod tym względem chlubnie wyróżnia się Tabela 23 (str. 112).

Podpis pod rysunkiem 1 (str. 14) nie posiada kropki, kolejne dwa podpisy (rys. 2 i 3) mają kropki lecz pod rysunkiem 4 podpis jej znów nie posiada jest natomiast pod rysunkiem 5. I taka zmienność występuje aż do końca zestawu rysunków, raczej z przewagą braków.

Czy na pewno płytki były „wywołane”? (w fragmencie na str. 43, w. 15g): „Następnie płytki zostały wywołane w fazie ruchomej...”.

Czy w pełni poprawne jest zdanie (str. 54, w.13/14d): „Masa cząsteczkowa o wartości do 150 Da to najczęściej swobodne przenikanie przez bariery.”? Czy to może skrót myślowy?

Skąd w początkowym fragmencie zdania (str.73, w.9g) „Natomiast W metodzie RF...” pojawia się duża litera?

W kilku fragmentach tekstu (np. str. 89, w.6d): „Kolejną grupę przypadków stanowią zasady (b),...” w opisie przeprowadzonych doświadczeń używa się terminu „przypadki” na określenia grupy badanych związków, co nie wydaje mi się właściwe i chętnie widziałbym „w tym przypadku” odnośniki do odpowiednich Tabel umieszczonych na końcowych stronach pracy.

Za uchybienie uważam fakt, że na dwóch grupach rysunków (rysunki 7-12, 29-39) znajdują się terminy angielskie (np. w opisach współrzędnych wykresów) zamiast ich polskich odpowiedników.


Trochę niekonsekwencji i uchybień jest też niestety w cytatach piśmiennictwa. O ile w większości pozycji podawane są strony czasopisma odpowiadające cytowanej pracy w pełnej postaci, czasem można stwierdzić pełną pierwszą stronę pracy i skróty ostatniej, np. poz. 51: 796–8, poz. 154: 1297–301, poz. 155: 815–21.

Poniżej podaję zauważone tamże przeze mnie braki lub/i ich uzupełnienia: poz. 8 i 10: zbędne „i” w skrótach czasopism; poz. 11: winno być pełne słowo : „Health”; poz 12: brak kropek w skrócie nazwy czasopisma; poz. 15: brak tomu i stron, winno być: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2003, 55, 617–627; poz. 16: brak stron, winno być: 156 (Suppl. 2), 3–7; poz. 36: w skrócie czasopisma winno być „*Bioorg.*”; poz. 43: brak stron, winno być: *J. Hepatol.* 2014, 61, 396–407; poz. 46: brak stron, winno być: *J. Pharm. Sci.* 2013, 102, 3458–67; poz. 52: brak stron, winno być: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2015, 86, 27–45; poz. 61: brak stron, winno być: *Mol. Pharmacol.* 1975, 11, 824–832; poz. 71: brak stron, winno być: *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003, 14, 25–34; poz. 72: brak stron, winno być: *Curr. Drug Metab.* 2013, 14, 226–238; poz. 73: brak stron, winno być: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003, 300, 41–46; poz. 77: brak wydawcy, winno być: „Elsevier”; poz. 84: zamiast „*Postępy*” winno być:

„Post.”; poz. 85: brak strony, winno być: *BMC Neurol.* 2009, 9 (Suppl. 1) 3; poz. 89: brak kropek w skrócie czasopisma, winno być: „*J. Pharmacol. Exp. Ther.*”; poz. 94: brak stron, winno być: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999, 288, 912–918; poz. 100: brak strony, winno być: *Front. Pharmacol.* 2012, 3, 126; poz. 196: brak stron, winno być: *Ginekol. Pol.* 2009, 80, 772–777; poz. 119: brak stron, winno być: *CNS Drugs* 2006, 20, 187–198; poz. 127: brak stron, winno być: *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2014, 28 1163–1173; poz. 128: brak stron, winno być: *J. Hum. Lact.* 2015, 31, 237–239; poz. 129: brak stron, winno być: *J. Hum. Lact.* 2013, 29, 469–472; poz. 130: brak stron, winno być: *Aust. Prescr.* 2007, 30, 125–127; poz. 134: brak wydawcy, winno być „McGraw-Hill”; poz. 137: brak stron, winno być: *Adv. Protein Chem.* 1994, 45, 153–203; poz. 141: brak stron, winno być: *Mol. Inform.* 2010, 29, 476–488.

Biorąc pod uwagę powyżej wspomniany wysoki poziom naukowy, ilość pracy poświęconej realizacji doświadczalnej oraz drobne niedociągnięcia rozprawy doktorskiej P. mgr farm. Karoliny Wanat stwierdzam, że rozprawa ta odpowiada w pełni stosownym wymogom ustawowym i z pełną odpowiedzialnością przedkładam Radzie Nauk Farmaceutycznych Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi mój wniosek o przyjęcie tej rozprawy i dopuszczenie Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 16. maj, 2021 r.



Prof. dr hab. Jacek Bojarski