



Warszawa, 02.10.2024

Prof. dr hab. Magdalena Biesaga,
Wydział Chemii UW
02-093 Warszawa
Pasteura 1

Recenzja rozprawy doktorskiej magister Jadwigi Musiał
pt „**Nowe podejście w izolowaniu i identyfikacji związków
psychoaktywnych (dopalaczy) w materiale biologicznym**”

Rozprawa doktorska mgr Jadwigi Musiał wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Renaty Gadzały-Kopciuch z Katedry Chemii Środowiska i Bioanalitiky Wydział Chemii, UMK w Toruniu oraz pod opieką naukową dr n. med. Jakub Czarny z Instytutu Genetyki Sądowej w Bydgoszczy, dotyczy opracowania nowych metod analitycznych wykorzystujących wysokosprawną chromatografię cieczową sprzężoną z tandemową spektrometrią mas do identyfikacji i ilościowej analizy nowych substancji psychoaktywnych i ich metabolitów.

Jest to bardzo aktualne zagadnienie, gdyż w ostatnich latach ciągle rośnie zainteresowanie nowymi substancjami psychoaktywnymi. Przy czym słowo „nowe” oznacza substancje, które pojawiły się na rynku nielegalnie i są używane w celach rekreacyjnych, a nie medycznych. Tego typu substancje nazywane są również dopalaczami, które stanowią alternatywę dla alkoholu czy klasycznych narkotyków. Substancje te działają na układ nerwowy podobnie jak klasyczne narkotyki. Producenci wprowadzają na rynek nowe modyfikacje znanych często substancji psychoaktywnych. Są one dość powszechnie dostępne, gdyż sprzedawane są np. jako sole do kąpieli czy inne preparaty, oznaczane jako produkty nie do spożycia. Produkty takie nie mają jednoznacznie określonego składu, a ich używanie zwłaszcza przez młodych ludzi stanowi ogromne ryzyko dla ich zdrowia, a nawet życia. Pojawiające się coraz to nowe struktury stanowią ogromne wyzwanie analityczne dla laboratoriów toksykologicznych.

Tematyka pracy podjęta przez Doktorantkę jest nie tylko bardzo ciekawa i aktualna, ale przede wszystkim otrzymane wyniki powinny mieć duże znaczenie praktyczne.

Rozprawa ma tzw. „nową formę” tzn. jest to zbiór czterech publikacji wieloautorskich (D1, D2, D3, D5) napisanych w języku angielskim, które zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym i patencie D4 (nr zgłoszenia P 441164UP). Cykl publikacji poprzedza 41 stronicowe



wprowadzenie oparte na 78 odnośnikach literaturowych. Pierwsza część pracy rozpoczyna się od wykazu skrótów stosowanych w dalszej części rozprawy. Uważam to za bardzo dobry pomysł, chociaż w tym przypadku jest to 11 stron. Zaprezentowane skróty stanowią w przeważającej większości nazwy związków oznaczanych przez Doktorantkę. W następnych rozdziałach zostało umieszczone krótkie wprowadzenie w tematykę omówioną w czterech publikacjach oraz w zgłoszeniu patentowym. W dalszej części wstępu Autorka przedstawiła cele rozprawy. W rozdziale 3 Doktorantka omówiła w sposób syntetyczny metabolizm substancji psychoaktywnych, analizę tych substancji i ich metabolitów w materiale biologicznym. Omówiła również metody przygotowania próbek biologicznych: włosy, krew, mocz, które stosowała w swoich badaniach oraz zastosowanie LC-MS/MS do analizy jakościowej i ilościowej ponad 500 substancji psychoaktywnych i ich metabolitów. W następnym rozdziale Doktorantka przedstawiła opis walidacji opracowanych przez siebie procedur analitycznych a w rozdziale 4 opisała krótko wdrożenie opracowanej metodyki do badań rutynowych w Instytucie Genetyki Sądowej w Bydgoszczy. W dalszych częściach zamieszczone są publikacje mgr Jadwigi Musiał stanowiące spójny tematycznie cykl. Każda publikacja i patent poprzedzone są krótkim streszczeniem zawierającym najważniejsze zagadnienia omówione w poszczególnych publikacjach. W rozdziale 6 Doktorantka przedstawiła zwięzłe podsumowanie swojej pracy i wnioski. Kolejne rozdziały zawierają bibliografię, streszczenie w języku polskim i angielskim. Na zakończenie rozprawy Autorka podała spis swoich osiągnięć naukowych. Pani mgr Jadwiga Musiał jest współautorką 4 publikacji z tzw. Listy Filadelfijskiej z IF i jednego zgłoszenia patentowego. Na ostatnich stronach rozprawy umieszczone są oświadczenia wszystkich współautorek i współautorów dotyczące ich wkładu pracy w poszczególne publikacje prac stanowiących podstawę dysertacji. Informacja ta pozwala recenzentce uznać, iż rola doktorantki w większości publikacji była dominująca, w trzech pracach jest ona pierwszą Autorką i również autorką do korespondencji. Doktorantka prezentowała swoje wyniki na sześciu konferencjach naukowych zarówno krajowych jak i międzynarodowych

Ponieważ materiał rozprawy jest oparty na publikacjach Doktorantki, które zostały już merytorycznie ocenione przez niezależnych recenzentów (wszystkie publikacje zostały opublikowane w czasopiśmie z tzw. listy Filadelfijskiej) moje zadanie jako recenzentki rozumiem jako przede wszystkim ocenę zakresu i tematyki prowadzonych badań. Dlatego w niniejszej recenzji skupiam się przede wszystkim na merytorycznej ocenie wstępu teoretycznego oraz komentarzy do publikacji.

Celem jaki postawiła sobie Doktorantka było opracowanie i wdrożenie do rutynowych analiz metod analitycznych pozwalających na oznaczanie jak



największej liczby substancji psychoaktywnych, leków i ich metabolitów w możliwie najkrótszym czasie w matrycach biologicznych (krewi, moczu i włosy) z zastosowaniem chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas. Ten cel został w pełni zrealizowany.

Praca bardzo mi się podobała. Od pierwszej strony a w zasadzie od wykazu skrótów (11 stron!) praca wzbudziła moje ogromne zainteresowanie i czytając ją zastanawiałam się jak to możliwe, żeby analizować tak ogromną liczbę związków. W krótkim, zwięzłym wprowadzeniu Doktorantka przedstawiła problematykę związaną z analizą dopalaczy i innych psychoaktywnych substancji. Jest to bardzo ciekawie napisane i stanowi znakomite wprowadzenie do omawianych w dalszej części dysertacji zagadnień. Również poprzedzające każdą publikację krótkie streszczenia są bardzo ciekawe. Metody przygotowania próbek i związane z tym problemy, opisane zostały w pracy przeglądowej [D1]. Zebrany materiał literaturowy umożliwił mgr Musiał skoncentrowanie się na opracowaniu nowych, bardziej efektywnych metod przygotowania próbek biologicznych do oznaczania badanych związków w próbkach włosów (D2) krwi (D3) i moczu (D5). Doktorantka opracowała metody oznaczania ponad 530 związków w tych próbkach. Jest to z punktu widzenia chemii analitycznej niezwykle osiągnięcie, zwłaszcza, że matryce próbek były bardzo skomplikowane. Nawet jeśli współczesne oprogramowania pomagają analitykowi w badaniach, to opracowanie warunków oznaczania dla tak ogromnej liczby związków wymaga niezwykle dużego nakładu pracy. Opracowane metody analityczne zostały poddane weryfikacji w badaniach biegłości a następnie wdrożone do rutynowych analiz Instytutu Genetyki Sądowej w Bydgoszczy i poddane akredytacji przez Polskie Centrum Akredytacji. Metody te zostały także uwzględnione w zgłoszeniu patentowym. Oznacza to, że mgr Musiał nie tylko opracowała nowe metody analityczne, ale również wdrożyła je do rutynowej praktyki laboratoryjnej.

Mimo bardzo wnikliwego przeczytania całej dysertacji nie mam żadnych uwag krytycznych. Jestem pod wrażeniem ogromnego nakładu pracy Doktorantki. Prowadząc ciągle własnoręcznie badania eksperymentalne wiem jak wiele czasu a czasem i cierpliwości wymaga samo opracowanie warunków detekcji mas a później metod rozdzielania i opracowanie wyników. Pragnę w tym miejscu pogratulować Doktorantce rezultatów prac eksperymentalnych i wyrazić mój podziw dla Pani pracy.



Do obowiązku recenzentki należy również także wskazanie błędów, niedociągnięć, uwag i postawienia pytań. W pracy znalazłam dość znaczną liczbę drobnych błędów językowych i gramatycznych o których wspominałam, ale proszę nie odpowiadać na te uwagi podczas obrony:

- W rozdziale 1 już w pierwszym zdaniu, które jest wielokrotnie złożone zabrakło czasownika. Generalnie w pracach naukowych lepiej unikać tak długich zdań.

- Ilość a liczba. Stosuje Pani te sformułowania dość przypadkowo a są one dobrze zdefiniowane. Określenia **ilość** używamy w odniesieniu do rzeczowników niepoliczalnych (np. ilość wody, piasku) natomiast **liczba** odnosi się do rzeczowników policzalnych np. liczba analitów, liczba ciężarówek z piaskiem czy liczba butelek wody. W przypadku Pani pracy jest bardzo dużo związków, ale ciągle jest to liczba związków a nie ilość. Np. w zdaniu „Ze względu na ilość analitów często stosuje się najpierw metody przesiewowe” Poprawnie powinno być np. ze względu na dużą liczbę analitów. Podobnie na str. 21 „Ze względu na ogromną ilość znanych już nowych substancji psychoaktywnych...”, na str. 28 „jednakże ze względu na ilość analitów”, str.30 „ilość i wielkość kulek”, str. 39 w nagłówku Tabeli 2 „ilość próbek”, str. 64 „ilość próbek”. Co ciekawe nie miała Pani żadnych problemów z poprawnym zastosowaniem słowa liczba w bardzo wielu przypadkach.

- W kilku przypadkach brak jest dopasowania odmiany rzeczownika lub czasownika do reszty zdania co pewnie wynika z pośpiechu lub „samodzielności” oprogramowania np. worda w poprawianiu słów.

- Na str 26 w zdaniu „Wraz ze wzrostem zainteresowania NPS wśród społeczeństwa, a także koniecznością przeciwdziałania rozprzestrzeniania się pozornie bezpiecznych dopalaczy.” zabrakło czasownika lub dalszej części tego zdania.

To co mnie zaciekało i chciałabym, jeśli to możliwe, dowiedzieć się więcej podczas obrony to:

1. Jaka była liczba osób od której pobierano włosy i jak wielkie były to próbki. Wiem, że 1 cm, ale czy te próbki były jakoś standaryzowane w sensie np. masy. Ani we wstępie, ani w artykule nie znalazłam takich informacji.
2. W analizie włosów często stosowane jest zamrażanie włosów np. w ciekłym azocie a następnie tak zamrożone próbki są rozdrabniane. Czy podejmowała Pani takie próby, bo takie rozdrobnienie mogłoby wpłynąć na efektywność ekstrakcji analitów.
3. Czy próbki krwi, moczu i włosów były pobierane od tych samych pacjentów czy też za każdym razem była to inna grupa. We wstępie jest napisane, że badanie różnych próbek od tego samego pacjenta da pewniejsze informacje. Jeśli ma Pani takie przykłady to



poprosiłabym o pokazanie takiej przykładowej korelacji wyników oznaczeń dla tych trzech matryc dla kilku związków (tzn. nie więcej niż trzech).

Przedstawione w rozprawie doktorskiej wyniki są aktualne i ciekawe o czym może świadczyć fakt, że rozprawa doktorska została zrealizowana w ramach programu „Doktorat wdrożeniowy” we współpracy z Instytutem Genetyki Sądowej w Bydgoszczy a opracowane metody zostały już wdrożone do rutynowych analiz.

W podsumowaniu chciałabym podkreślić, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Jadwigi Musiał prezentuje wysoki poziom merytoryczny. Doktorantka wykazała się świetną znajomością zagadnień związanych z zawansowaną chemią analityczną takich jak przygotowanie próbek, opracowanie warunków tandemowej detekcji mas i metod rozdzielania chromatograficznego. Dzięki opracowanym i wdrożonym przez mgr Musiał metodom analitycznym możliwe jest oznaczanie ponad 530 związków psychoaktywnych i ich metabolitów co ma ogromne znaczenie praktyczne. Opracowane metody umożliwiają identyfikacji tych związków u pacjentów jak również mogą pomóc w tropieniu nielegalnych laboratoriów produkujących te związki. Uważam także, że stopień złożoności dysertacji, opracowanie metod analizy tak ogromnej liczby związków zarówno nowych substancji psychoaktywnych jak i ich metabolitów i niezwykła drobiazgowość z jaką przeprowadzona została analiza otrzymanych wyników zasługują na wyróżnienie. Dlatego wnoszę do Rady Dyscypliny **o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Jadwigi Musiał.**

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa mgr Jadwigi Musiał spełnia wymagania ustawowe stawiane rozprawom doktorskim w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (aktualne odniesienie do aktu prawnego – tekst jednolity: Dz. U. z 2023 poz. 742 z późn. zm.) i wnoszę o dopuszczenie mgr Jadwigi Musiał do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

MPieł