



prof. dr hab. Przemysław Niedzielski

Poznań, 14 lutego 2022 r.

Recenzja

pracy doktorskiej mgr. Krzysztofa Kaszkowiaka „Ocena zagrożeń zdrowotnych związanych z glifosatem na podstawie jego zawartości w wodzie pitnej i w modelu eksperymentalnym *in vitro*”

zrealizowanej w Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Kolegium Nauk o Zdrowiu, pod kierunkiem dr hab. Jakuba Żurawskiego

Informacje wstępne

Oceniana praca stanowi próbę określenia potencjalnego poziomu glifosatu w wodzie wodociągowej pobranej z wybranych punktów na terenie Wielkopolski. Na podstawie uzyskanych informacji podjęto następnie próbę oceny *in vitro* oddziaływania glifosatu w stężeniach, w których jest obecny w wodzie wodociągowej, na komórki krwi obwodowej.

Oceny pracy dokonuję na podstawie pisma Kanclerza Kolegium Nauk o Zdrowiu, wskazującego jako podstawę prawną rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora, Dz.U. 2018 poz. 261. Zatem ocena pracy dokonana jest w tzw. „starym trybie”, tj. na podstawie ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595 (tekst jednolity: Dz.U. 2017 poz. 1789). Dla zachowania przejrzystości oceniłem ponadto spełnianie wymagań zawartych w aktualnie obowiązującej ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, Collegium Chemicum, 61-614 Poznań
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293
tel. +48 61 829 15 74; fax. +48 61 829 15 55
pnied@amu.edu.pl

Ocena strony formalnej pracy

Praca liczy 85 numerowanych stron. Składa się 10 rozdziałów, przy czym 7 z nich zawiera część merytoryczną pracy uzupełnioną o streszczenie w języku polskim i angielskim oraz informację o aktywności naukowej Autora. W pracy zawarto 16 rysunków i 16 tabel, przy czym po 15 z nich ilustruje wyniki badań Autora. Praca zawiera obszerną bibliografię obejmującą 178 pozycji. Cennym uzupełnieniem pracy jest obszerny spis stosowanych skrótowców (akronimów). Praca została napisana starannie, w zrozumiałym sposobie, przy zachowaniu jasności sformułowań. Dobrze świadczy o Autorze pracy niewielka ilość błędów: gramatycznych czy tzw. literówek, które nie wpływają na jakość tekstu. **Stronę formalną pracy oceniam jako prawidłową, odpowiadającą wymogom stawianym rozprawom naukowym** (art. 13 pkt. 1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, również art. 187 pkt. 3, 4 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce).

Ocena merytoryczna pracy

Rozprawa rozpoczyna się wstępem literaturowym (Rozdział 1), w którym przedstawiono podstawowe zagadnienia dotyczące zarówno zastosowania, jak i potencjalnego wpływu glifosatu na organizm człowieka. W tej części pracy omówione zostało zastosowanie glifosatu jako herbicydu i wskazano preparaty handlowe zawierające ten związek chemiczny. Następnie wskazane zostały potencjalne drogi ekspozycji, w tym narażenia związane z obecnością glifosatu w żywności. Omówiono wreszcie wpływ glifosatu na organizm człowieka i przedstawiono kontrowersje z tym związane. Ta część pracy jest z jednej strony niezwykle syntetyczna, z drugiej strony pozwala jednak, przede wszystkim ze względu na obszerność cytowanej literatury, na zapoznanie się z literaturowym kontekstem badań. Zdecydowanie brakuje tu jednak informacji na temat procedur badawczych stosowanych w oznaczeniach zawartości glifosatu. Mimo tego istotnego ograniczenia **lektura wstępu literaturowego pozwala na stwierdzenie, że zgodnie z wymogami ustawowymi Autor wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną w dziedzinie, w której prowadzi badania** (art. 13 pkt. 1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, również art. 187 pkt. 1 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce).

W Rozdziale 2 Autor sprecyzował cel pracy. Jak wspomniałem we wstępie, celem pracy były badania nad zawartością glifosatu w wodzie wodociągowej na terenie Wielkopolski. Badania te, w założeniu miały posłużyć określeniu stężeń glifosatu użytych następnie w badaniach *in vitro* oddziaływania glifosatu na komórki krwi obwodowej. Sformułowane zostały również cele szczegółowe, stanowiące założenia części badawczej pracy: (i) oznaczenie zawartości glifosatu

w wodzie wodociągowej, (ii) ocena wpływu glifosatu na metabolizm wewnątrzkomórkowy poprzez badania produkcji reaktywnych pochodnych tlenowych przez granulocyty krwi obwodowej, (iii) ocena wpływu glifosatu na poziom glutationu w kontekście równowagi redox w komórkach.

Kolejna część pracy (Rozdział 3) zawiera zestawienie i opis narzędzi badawczych wykorzystywanych przez Autora. Przedstawione zostały dwie procedury oznaczania glifosatu w wodzie: test immunoenzymatyczny (ELISA) oraz technika wysokosprawnej chromatografii ciekowej (HPLC) z detekcją spektrofotometryczną (UV-Vis). Jakkolwiek obydwie procedury zostały opisane szczegółowo, to jednak zabrakło ich charakterystyki metrologicznej. Poza granicą wykrywalności dla pierwszej procedury Autor nie podał jakichkolwiek informacji szczegółowych. Tak samo brakuje informacji o kontroli jakości wykonywanych analiz. W tej części pracy opisano również procedury badań oddziaływania glifosatu na komórki krwi obwodowej (ocena żywotności leukocytów, badania produkcji reaktywnych form tlenu, ocena zdolności neutrofilów do fagocytozy oraz oznaczanie stężenia glutationu). W końcowej części rozdziału Autor przedstawił również narzędzia analizy statystycznej. Ta część pracy jest zdecydowanie zbyt skrótowa. Autor nie pokusił się o wyjaśnienie celowości i warunków stosowalności poszczególnych testów statystycznych. W przypadku badania charakteru rozkładu wybrano test Kołmogorowa-Smirnowa, brakuje jednak uzasadnienia tego wyboru wobec możliwości wykorzystania np. testów Lilleforsa czy Shapiro-Wilka. Podobnie użycie testu Friedmana powinno zostać uzasadnione. Ponadto, z jednej strony Autor sygnalizuje brak rozkładu normalnego dla danych doświadczalnych, z drugiej strony w analizie opisowej posługuje się średnią arytmetyczną, która w tym przypadku nie jest miarą wartości centralnej. To wyjaśnienie celowości stosowania narzędzi statystycznych wydaje się tym bardziej istotne, gdyż Autor pracy wskazuje, iż analizy statystyczne nie zostały wykonane bezpośrednio przez Niego.

Rozdział 4 poświęcony został omówieniu wyników prac badawczych. Autor szczegółowo przedstawia uzyskane wyniki. Tekst uzupełniają liczne rysunki i zestawienia tabelaryczne. Ta część pracy została dobrze przygotowana i praktycznie nie budzi wątpliwości. Wyjaśnienia wymaga jedynie sposób zapisu wyników: przyjęto konwencję równej liczby miejsc dziesiętnych, zdecydowania bardziej uzasadniona wydaje się jednak notacja z uwzględnieniem odpowiedniej (zgodnej z charakterystyką danej procedury) ilości miejsc znaczących.

Rozdział 5 to dyskusja uzyskanych danych doświadczalnych w kontekście wyników uzyskanych przez innych autorów. Dyskusja została przeprowadzona szczegółowo i w oparciu o bardzo dużą ilość informacji literaturowych. Ta część pracy również nie budzi wątpliwości,

szczególnie, że pozwoliła na sformułowanie wniosków podsumowujących badania (Rozdział 6). Podsumowanie pracy zostało zawarte aż w 8 punktach, co powoduje wymieszanie informacji o różnej skali istotności i utrudnia, w pierwszej chwili, jednoznaczną ocenę. Jednak można wskazać na najbardziej istotne osiągnięcia pracy stanowiące nowość naukową.

Elementy nowości naukowej

1. Określono stężenie glifosatu w wodzie wodociągowej z Wielkopolski (66 próbek) wskazując na niskie stężenia tego związku.
2. Wskazano, iż w niskich stężeniach glifosat nie oddziałuje toksycznie na ludzkie komórki oraz nie powoduje wzrostu produkcji reaktywnych pochodnych tlenowych przez granulocyty krwi obwodowej.

Podsumowując można zatem stwierdzić, że zgodnie z wymogami ustawowymi oceniana praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego a Autor posiadał umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej (co spełnia wymagania zawarte w art. 13 pkt. 1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, ale również w art. 187 pkt. 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce).

W końcowej części pracy Autor zawarł zestawienie swojego dorobku publikacyjnego. Wskazane zostało 10 prac naukowych, z czego 8 w języku polskim. Dwie anglojęzyczne prace zostały opublikowane odpowiednio w European Journal of Biological Research i w Polish Journal of Pathology (IF=1,072, 40 punktów MEiN). Pozostałe prace zostały opublikowane w: Forum Reumatologicznym (3 prace, 40 punktów MEiN), Polskim Przeglądzie Nauk o Zdrowiu (2 prace), Pielęgniarstwie Polskim oraz w Przeglądzie Dermatologicznym (20 punktów MEiN). Jedna praca to rozdział w monografii naukowej. Nie jest to zestawienie imponujące, jednak spełnia prawne wymagania dotyczące liczby i rodzaju publikacji naukowych osoby ubiegającej się o stopień naukowy doktora.

Należy podkreślić, że rozprawa napisana jest w sposób poprawny. Jednakże Autor nie ustrzegł się niejasności, które zestawiono poniżej.

Uwagi ogólne

1. Autor wielokrotnie powtarza sformułowanie o „oszacowaniu wielkości skażenia wody glifosatem”. Wobec spodziewanych i uzyskanych niskich poziomów tego związku w wodzie określenie „skażenie” nie jest uzasadnione.



2. W pracy brakuje charakterystyki metrologicznej używanych procedur analitycznych. Brakuje również informacji na temat zarządzania jakością i kontroli serii analiz. Jest to bardzo poważne niedopatrzenie, gdyż brak owych informacji nie pozwala na udowodnienie przez Autora swoich kompetencji do wykonywania analiz. W świetle oparcia dyskusji pracy o wyniki tych analiz nie pozwala również na ocenę jakości wyników i ich miarodajności. Jakkolwiek zachęcam Autora do publikacji swoich wyników, to jednak wskazane braki muszą zostać uzupełnione.
3. Podobnie brakuje opisu i uzasadnienia stosowania narzędzi statystycznych. Wyniki tych analiz powinny zostać jednoznacznie zidentyfikowane w tekście pracy.
4. Wyniki analiz powinny być podawane z odpowiednią, określoną w charakterystyce metrologicznej danej procedury, ilością miejsc znaczących (a nie miejsc dziesiętnych).

Uwagi szczegółowe

Od strony redakcyjnej praca została przygotowana starannie a niewielka ilość błędów czy tzw. literówek nie utrudnia lektury, nie wymaga też szczególnego podkreślenia czy wyszczególnienia.

Zagadnienia do wyjaśnienia (pytania do Doktoranta):

Przedstawione powyżej uwagi i komentarze nie obniżają pozytywnej oceny pracy i nie oczekuję, by Doktorant się do nich ustosunkował. Stały się one jednak podstawą do sformułowania zagadnień wymagających wyjaśnienia (w możliwie skondensowanej formie) przez Autora pracy:

1. W analizie wody Doktorant posłużył się dwoma metodami: ELISA i HPLC, wskazując na porównywalność uzyskanych wyników. Prosiłbym o przedstawienie możliwości i ograniczeń każdej z tych metod i w ich świetle wskazanie rekomendowanej przez Doktoranta procedury.
2. Prosiłbym również o wskazanie, w kontekście uzyskanych wyników, potencjalnego zagrożenia lub jego braku, związanego z obecnością glifosatu w środowisku wodnym.

Podsumowanie

Podsumowując stwierdzam, iż przedstawiona przez Pana mgr. Krzysztofa Kaszkowiaka „Ocena zagrożeń zdrowotnych związanych z glifosatem na podstawie jego zawartości w wodzie pitnej i w modelu eksperymentalnym in vitro” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie o Stopniach i Tytule Naukowym z dnia 14.03. 2003 r. (Dz. U.

nr 65, poz. 595 z 2003 r. z późniejszymi zmianami) spełniając również merytoryczne i formalne wymagania ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Zgodnie z zapisem przywoływanych aktów prawnych oceniana praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego a Autor posiadał umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. **W związku z tym wnoszę o dopuszczenie Pana mgr. Krzysztofa Kaszkowiaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**



Przemysław Dziubiński