

Imię i nazwisko recenzenta:

prof. dr hab. n. farm. Zbigniew Edward Fijałek

Miejsce pracy recenzenta:

Emerytowany profesor Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Wolontariat w Zakładzie Chemii Leków, Analizy Farmaceutycznej i Biomedycznej WUM

Warszawa, dn. 17.07.2024

Ocena dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr Karola Jarocho w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

Uchwałą Nr 9/2024 Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne w Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu z dnia 20 lutego 2024r., na podstawie art. 221 ust. 5 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2021, poz. 478 z późn.zm.) i S 8 ust. 3 Uchwały nr 37 Senatu Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu z dnia 26 września 2023r. w sprawie sposobu postępowania o nadane stopnia doktora habilitowanego na UMK (Biuletyn Prawny UMK z 2023r., poz. 328) oraz S 59 ust.1 pkt.1 Uchwały Senatu UMK w Toruniu z dnia 16 kwietnia 2019r. Statut Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (Biuletyn Prawny UMK z 2019r., poz. 120) Rada Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne w dniu 20.02.2024r., zostałem powołany w skład Komisji Habilitacyjnej do przeprowadzenia czynności w postępowaniu w sprawie o nadanie stopnia doktora habilitowanego Panu dr Karolowi Jarocho, w której powierzono mi funkcję recenzenta. Decyzja ta została potwierdzona w dniu 6.06.2024 r. wiadomością e-mail z Dziekanatu Wydziału Farmaceutycznego o przesłaniu dokumentacji.

Jako główne osiągnięcie naukowe Habilitant wskazał **„Wykorzystanie metod mikroekstrakcyjnych w analizach próbek biologicznych o ograniczonej dostępności”**. Dołączył również informację o dodatkowym, drugim osiągnięciu naukowym, dotyczącym współpracy z partnerami nieakademickimi, w ramach współpracy nauki z biznesem. Niniejsza ocena opiera

się na materiałach załączonych przez Habilitanta do Jego wniosku oraz informacjach dostępnych w internetowych bazach danych.

I. Dane podstawowe.

Dr Karol Jaroch uzyskał tytuł zawodowy magistra Biotechnologii Medycznej na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy w 2014 roku. Następnie na tym samym Uniwersytecie w 2016 roku uzyskał tytuł zawodowy magistra Farmacji. Również na tym samym Uniwersytecie 2019 roku uzyskał stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne, na podstawie rozprawy pt. *„Badania cytotoksyczności i metabolizmu kombretastatyny A4 oraz analizy metabolomiczne linii komórkowych z wykorzystaniem nowatorskich metod mikroekstrakcyjnych”*. Promotorem pracy była Pani dr hab. n. farm. Barbara Bojko. Praca została obroniona z wyróżnieniem.

Od 2014 r. Habilitant zatrudniony był w Katedrze Farmakodynamiki i Farmakologii Molekularnej, Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, na stanowisku asystenta (2014 – 2021 r.), a następnie od 2021 roku na stanowisku adiunkta. W okresie od stycznia 2020 roku przez 12 miesięcy zatrudniony był na stanowisku postdoctoral fellow na Wydziale Chemii, Uniwersytetu w Waterloo, Waterloo Kanada.

II. Ocena znaczącego osiągnięcia naukowego Habilitanta.

Główne osiągnięcie wskazane przez Habilitanta stanowi cykl czterech prac powiązanych tematycznie i objętych wspólnym tytułem: *„Wykorzystanie metod mikroekstrakcyjnych w analizach próbek biologicznych o ograniczonej dostępności”*. Prace te zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach, obecnych w bazie Journal Citation Reports (JCR). Ich łączny wskaźnik oddziaływania (ang. impact factor, IF) wynosi **37.207** (A.1. – **8,8**; A.2. – **8,8**; A.3. - **5.581**; A.4. - **14.026**), natomiast punktacja Ministerstwa Nauki i Edukacji to 520 punktów.

W publikacji A.1. dr Krzysztof Jaroch ma równe pierwsze autorstwo z Jiang Runshan Will (equal contribution), autorem korespondencyjnym jest prof. Janusz Pawliszyn; w publikacji A.2. jest pierwszym autorem, autorem korespondencyjnym jest prof. Janusz Pawliszyn; w publikacji A.3. ma równe pierwsze autorstwo z Modrakowską Pauliną, autorem korespondencyjnym jest dr. hab. Barbara Bojko; w publikacji A.4. jest pierwszym autorem, autorem korespondencyjnym jest dr. hab. Barbara Bojko. Według oświadczeń współautorów istotny udział w przygotowaniu

ostatecznej wersji manuskryptów i odpowiedziami na uwagi recenzentów miała Pani dr hab. Barbara Bojko, prof. UMK oraz Pan prof. Janusz Pawliszyn (University of Waterloo) - nadzór i akceptacja merytoryczna manuskryptów przygotowanych do publikacji.

Rolą recenzenta jest weryfikacja umiejętności prowadzenia samodzielnych badań naukowych przez Habilitanta. Analizując przedstawioną mi dokumentację mam pewne wątpliwości, czy dorobek przedstawiony w osiągnięciu jest wystarczającym tego potwierdzeniem. Nie budziłyby moich wątpliwości prace opublikowane w zespołach, w których Habilitant odgrywałby wiodącą rolę w przygotowaniu manuskryptów i odpowiedzi na uwagi recenzentów.

Prace stanowiące znaczące osiągnięcie naukowe Habilitanta (A.1. – A.4.) opublikowane zastały w czasopiśmie o wysokiej renomie naukowej (łączny IF 37.207), nie ma więc potrzeby dodatkowej ich oceny przez recenzenta, należy jedna podkreślić ich najważniejsze znaczenie naukowe:

A.1.

- Modyfikacja protokołu analitycznego opartego o komercyjny zestaw do oznaczeń metabolomicznych w celu jego połączenia z SPME.
- Wykazanie możliwości profilowania metabolomicznego tkanki natywnej z wykorzystaniem połączenia SPME oraz komercyjnego zestawu.
- Wykazanie różnic między tkanką natywną oraz poddaną homogenizacji.

A.2.

- Modyfikacja instrumentu analitycznego celem wykonywania oznaczeń opartych o Coated Blade Spray (CBS).
- Wykorzystanie dwóch technik SPME-MS do analizy biokonwersji proleku w formę aktywną.
- Pozytywne porównanie w/w technik z standardową techniką analityczną celem ich walidacji.

A.3.

- Wytypowanie najczęściej stosowanych metod preparatyki próbek stosowanych do badań metabolomicznych hodowli komórkowych in vitro.
- Wskazanie jakie modele komórkowe cechują się wysokim poziomem ekstrapolacji in vitro in vivo.

A.4.

- Adaptacja systemu SPME opartego o włókna do monitorowania zmian metabolomu linii komórkowych mysiego czerniaka B16F10 w czasie ich wzrostu w modelach in vitro 2D oraz 3D.

- Analiza metabolomu modelu mysiego czerniaka B16 F10 in vivo z wykorzystaniem szczepu modelowego C57BL/6.
- Porównanie modeli in vitro 2D oraz 3D celem wytypowania dokładniejszego modelu ekstrapolacyjnego (ang. in vitro to in vivo extrapolation, IVIVE).

Podsumowując, w cyklu prezentowanych prac Habilitant wykazał, że mikroekstrakcja do fazy stałej jest bardzo uniwersalnym narzędziem analitycznym, które może być stosowane w wielu aplikacjach biologicznych, a szczególnie gdy analizowanym materiałem jest cenny, limitowany i/lub jest go mało. Przegląd literatury w tematyce oznaczeń metabolomicznych hodowli komórkowych glejaka, wskazał na brak rozpowszechnienia nowych technik ekstrakcyjnych. Zwyczajowo, do analiz wykorzystane są hodowle prowadzone w butlach lub szalkach Petriego, brakuje natomiast wdrażania systemów wysokoprzepustowych, np. płytek wielodołkowych. Dodatkowo, protokoły wymagają dużej ilości materiału do badań oraz są terminalne dla hodowli komórkowych, co uniemożliwia ich dalsze wykorzystanie w innych analizach (A.3.).

W osiągnięciu bardzo istotna jest analiza metabolomiczna mysiego modelu czerniaka, w której wykazano unikalną możliwość wielokrotnego prowadzenia analiz z dokładnie tych samych próbek, których objętość i dostępność jest limitowana, zarówno w warunkach in vitro, jak i in vivo. Jest to szczególnie istotne dla badań na modelu zwierzęcym, ponieważ agencje międzynarodowe wymagają minimalizowania cierpienia oraz ilości wykorzystywanych zwierząt laboratoryjnych. Dzięki bardzo niskiej inwazyjności całego protokołu SPME możliwe było przeprowadzanie wielokrotnych ekstrakcji na tym samym osobniku w modelu in vivo. Dodatkowo, zastosowanie identycznego protokołu między platformami in vivo oraz in vitro zagwarantowało, że różnice w wynikach są związane z różnicami biologicznymi lub modelem, a nie przeprowadzonym protokołem analitycznym (A.4.). Połączenie zestawu komercyjnego, dzięki któremu generowane są wyniki wysokiej jakości, z SPME umożliwiły bezpośrednią analizę tkanek w postaci natywnej. Takie podejście jest preferowane bardziej niż przeprowadzanie tkanki w formę półpłynną z wielu względów. Jednym z nich jest zmiana metabolomu następująca w wyniku niszczenia tkanek oraz potwierdzona dostępną literaturą. Kolejnym istotnym elementem projektu była niska inwazyjność protokołu SPME, w którym nie dochodziło do fizycznego poboru tkanki (A.1.). W trakcie projektowania nowych leków, związki badane przechodzą szereg oznaczeń. Część z nich dotyczy ich biotransformacji, która szczególnie ważna jest gdy badana cząsteczka nie wykazuje aktywności biologicznej i podlega aktywacji dopiero w

układzie biologicznym. Dzięki zastosowaniu dwóch metod opartych o SPME: Coated-PESI oraz Coated Blade Spray możliwe było wykonanie analiz w czasie krótszym od techniki referencyjnej PPT-LC-MS. Prowadzenie ekstrakcji zaproponowanymi metodami wpisuje się również w założenia zielonej chemii, czyli trendu promującego zmniejszanie negatywnego wpływu analiz laboratoryjnych na środowisko.

III. Ocena dodatkowego osiągnięcia naukowego Habilitanta.

W autoreferacie dr Karol Jaroch wskazał również na swoje dodatkowe osiągnięcie, dotyczące współpracy z partnerami nieakademickimi w ramach współpracy nauki z biznesem. Podczas pobytu jako postdoctoral fellow na Uniwersytecie w Waterloo w Kanadzie, oprócz prowadzenia badań naukowych, nawiązał współpracę z firmą Biocrates Life Sciences AG, w celu rozwijania techniki SPME w aplikacjach biomedycznych. Firma ta posiada w portfolio kilka zestawów do ilościowego profilowania metabolomicznego, opartego o normalizację izotopowo znakowanych analogów związków endogennych. Współpraca Habilitanta i zespołu prof. Pawliszyna, doprowadziła do opracowania protokołu umożliwiającego połączenie SPME z tym zestawem, w celu analizy tkanki w formie natywnej. Publikacja A.1. wynikająca z tej współpracy jest pierwszą, która wskazuje na możliwość wykorzystania zaproponowanej strategii do poprawy jakości badań metabolomicznych, na tkance nie poddanej homogenizacji, a w przyszłości także *in vivo*.

Kolejna współpraca z firmą Shimadzu Corporation zaowocowała zaprojektowaniem i wydrukowaniem na drukarce 3D specjalnego adaptera, który umożliwił pozycjonowanie sondy CBS przed linią desolvacyjną spektrometru mas. Praca A.2. cyklu jest pierwszym połączeniem techniki CBS ze spektrometrem mas tej firmy i pokazuje potencjał komercjalizacyjny tegoż połączenia.

Wartość praktycznego połączenia nauki z biznesem wynika z synergii między zaawansowaną wiedzą naukową a praktycznymi potrzebami rynkowymi, co sprzyja innowacjom, rozwojowi i zrównoważonemu wzrostowi.

IV. Ocena dorobku naukowo-badawczego.

Dorobek naukowy dr Karola Jarocha łącznie ze zgłoszonym do osiągnięcia naukowego obejmuje 68 publikacji. W 18 z nich jest on pierwszym autorem.

- łączna wartość punktacji KBN/MEiN: 2469.000

- Wartość wskaźnika IF: 117.639
- Cytowania (Web of Science Core Collection): 259
- Cytowania bez autocytowań (Web of Science Core Collection):237
- Index H:7 (Web of Science Core Collection)
- Cytowania (Scopus): 284
- Cytowania bez autocytowań (Scopus): 265
- Index H=8 (Scopus)

Dorobek po uzyskaniu stopnia doktora:

- Łączna wartość punktacji KBN/MEiN: 2010.000
- Wartość wskaźnika IF: 93.950

Bardzo pozytywnie oceniam aktywność naukową Habilitanta, przejawiającą się wyjazdami stażowymi krajowymi i zagranicznymi, podczas których poszerzał on wiedzę i umiejętności z zakresu metabolomiki i wykorzystanie metod mikroekstrakcyjnych w analizach próbek biologicznych o ograniczonej dostępności. W latach 2016-2023 odbył cztery zagraniczne staże naukowe:

1. 2016/02/27-2016/04/08: Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet w Oslo, Oslo, Norwegia. Wyjazd realizowany w ramach programu „Staff Mobility for Training” finansowanego przez FSS/EEA & Erasmus+.

2. 2017/02/01-2017/03/22: Wydział Chemii, Uniwersytet w Waterloo, Waterloo Kanada. Wyjazd realizowany w ramach grantu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, Konkurs Harmonia 7. Tytuł projektu: *„Nowe rozwiązania analityczne w onkologii: od badań podstawowych do szybkiej diagnostyki śródoperacyjnej”*.

3. 2022/11/07-2022/11/22: Wydział Chemii, Uniwersytet Wiedeński, Wiedeń, Austria. Wyjazd realizowany w ramach realizacji grantu finansowanego przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej. Tytuł projektu: *„Standaryzowanie metod mikroekstrakcyjnych dla czasowo-rozdzielczej metabolomiki”*.

4. 2023/01/05-2023/01/15 Wydział Chemii, Środkowo-Wschodni Uniwersytet Techniczny Ankara, Turcja. Wyjazd realizowany w ramach realizacji grantu finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju. Tytuł projektu: *„Innowacja w badaniach translacyjnych: biokompatybilne mikrosondy do badań nowotworów in vitro i in vivo”*.

V. Realizacja grantów o zasięgu krajowym i międzynarodowym.

Habilitant był wykonawcą i kierownikiem w 6 projektach naukowych o zasięgu krajowym i międzynarodowym:

2019–2020 - Kierownik projektu finansowanego przez KUBUS 2.0-Komercjalizacja Uniwersyteckich Badań i Usług, Tytuł Projektu: „Wytwarzanie uniwersalnej platformy analitycznej opartej o mikroekstrakcję do fazy stałej służąca do analiz w systemie wysokoprzepustowym”.

2016–2020 - Kierownik projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, Konkurs: PRELUDIUM 12. Tytuł projektu: Uniwersalna platforma analityczna oparta o mikroekstrakcję do fazy stałej służąca do badań metabolizmu generowanego w warunkach in vitro”.

2023 - Wykonawca w międzynarodowym grantie finansowanym przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, (w ramach programu "Development of new analytic tools and pathways to accelerate diagnosis and diagnostic monitoring of rare diseases"), Tytuł projektu: „Test metaboliczny in vivo na hipertermię złośliwą”.

2019-2024 - Wykonawca w międzynarodowym grantie finansowanym przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, Tytuł projektu: „Innowacja w badaniach translacyjnych: biokompatybilne mikrosondy do badań nowotworów in vitro i in vivo”.

2017 - Wykonawca w projekcie finansowanym przez Ministerstwo Obrony Narodowej, Konkurs: Kościuszko edycja II, Tytuł projektu: "Profilowanie metabolomiczne i lipidomiczne substancji białej i szarej kory mózgowej z wykorzystaniem nowoczesnej technologii opartej na biopsji chemicznej połączonej ze spektrometrem mas”

2015 - Wykonawca w grantie finansowanym finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, konkurs: HARMONIA 7, Tytuł projektu: „Nowe rozwiązania analityczne w onkologii: od badań podstawowych do szybkiej diagnostyki śródoperacyjnej.

Habilitant recenzował artykuły naukowe dla czasopisma Trends in Analytical Chemistry (IF 13.1; dwie prace) i Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (IF 3,4; jedna praca).

VI. Działalność dydaktyczna, organizacyjna i popularyzatorska.

W ramach pracy naukowo-dydaktycznej od 2014 roku Habilitant prowadzi ćwiczenia, seminaria i wykłady, był współautorem skryptów i sylabusów, dla następujących przedmiotów i kierunków:

- Farmakologia i Farmakodynamika I na kierunku Farmacja.
- Farmakologia i Farmakodynamika II na kierunku Farmacja.
- Biotechnologia Farmaceutyczna na kierunku Farmacja.
- Farmakoterapia i informacja o lekach na kierunku Farmacja.
- Farmakologia na kierunku Zielarstwo i fitoterapia (kierunek prowadzony w ramach współpracy z Politechniką Bydgoską im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich).
- Farmakologia z Toksykologią na kierunku Kosmetologia.
- Pharmacology with Pharmacodynamics II w ramach programu Erasmus 8.
- Pharmaceutical Biotechnology w ramach programu Erasmus.

Sprawował opiekę merytoryczną nad stażystami i magistrantami. Od 2022 roku jest członkiem Zespołu ds. Promocji Wydziału Farmaceutycznego, Collegium Medicum, UMK w Toruniu. W ramach działalności popularyzatorskiej od 2016 roku przeprowadził 6 kursów międzynarodowych, związanych z bioanalizą i mikrometodami. Otrzymał wiele nagród za działalność naukową i organizacyjną. Nie ulega więc wątpliwości, że dr Karol Jaroch potrafi bardzo dobrze łączyć działalność naukową i dydaktyczną, co jest niezmiernie ważną cechą samodzielnego pracownika Uczelni.

VII. Podsumowanie i wniosek końcowy.

Na podstawie przedstawionej oceny dorobku naukowego dr Karola Jarocha, w tym monotematycznego cyklu publikacji pt. *„Wykorzystanie metod mikroekstrakcyjnych w analizach próbek biologicznych o ograniczonej dostępności”* stwierdzam, że dr n. farm. Karol Jaroch wniósł znaczący wkład naukowy, badawczy i aplikacyjny do wiedzy w zakresie zastosowania metod mikroekstrakcyjnych w metabolomice. Od czasu doktoratu istotnie powiększył dorobek naukowy o pozycje liczące się w specjalistycznym piśmiennictwie naukowym. Ponadto Kandydat wykazał wysoką aktywność dydaktyczną i organizacyjną.

W związku z powyższym mogę stwierdzić, że spełnia On wszystkie warunki do nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie

nauki farmaceutyczne, określone ogólnie w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. Ust. Z 2018 r., poz. 1668) z późniejszymi zmianami jednolity tekst ustawy z dn. 1 marca 2021 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. Ust. Z 2021 r., poz. 478).



prof. dr hab. n. farm. Zbigniew Fijałek