



ZAKŁAD BIOFIZYKI

Lublin, 24 maja 2017 r.

Prof. dr hab. Wiesław I. Gruszecki
Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Emilii Staniszewskiej-Ślęzak pt. „Spektroskopia absorpcyjna w podczerwieni w diagnostyce cukrzycy i nadciśnienia”

Dynamiczny rozwój technik instrumentalnych, jakiego jesteśmy świadkami w ostatnich dekadach, stwarza nowe możliwości prowadzenia badań przyrodniczych, zarówno w aspekcie precyzji pomiarów jak i nowych podejść metodologicznych. Wydaje się, iż teza ta jest szczególnie wyrazista w przypadku diagnostyki medycznej, w której obserwujemy automatyzację typowych testów materiału biologicznego ale też wprowadzanie nieznanymi wcześniej podejść metodologicznych oraz technik analitycznych. Rozprawa doktorska pani mgr Emilii Staniszewskiej-Ślęzak doskonale wpisuje się w ten właśnie nurt aktywności naukowo-badawczej. Autorka rozprawy postawiła sobie za cel opracowanie markerów spektralnych trzech popularnych schorzeń związanych z dysfunkcją śródbłonna naczyń krwionośnych: cukrzycy, nadciśnienia tętniczego oraz nadciśnienia płucnego, w oparciu o zaawansowane analizy pochłaniania promieniowania z zakresu IR przez składniki krwi. W moim odczuciu, tak zarysowana tematyka pracy doktorskiej jest, z jednej strony bardzo interesująca ale również ogromnie ważna.

Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki
Wydział Matematyki, Fizyki i Informatyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

pl. Marii Curie-Skłodowskiej 1
20-031 Lublin
tel. (81) 537 62 50
fax (81) 537 61 91
e-mail: info@biofizyka.umcs.lublin.pl



Praca doktorska wykonana została pod kierunkiem prof. dr hab. Małgorzaty Barańskiej, przy współudziale dr hab. Kamilli Małek w charakterze promotora pomocniczego, w renomowanym Zespole Obrazowania Ramanowskiego Zakładu Fizyki Chemicznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Rozprawa doktorska jest opracowaniem niezwykle obszernym. Zredagowana została na 183 stronach maszynopisu oraz opatrzona kopiami czterech oryginalnych artykułów opublikowanych w czasopismach specjalistycznych, w których prezentowane były częściowo wyniki uzyskane w ramach projektu doktorskiego. Ponadto, zamieszczona została kopia jednego, uzyskanego już patentu. Praca doktorska zredagowana została według typowego, optymalnego moim zdaniem układu. Po spisie treści oraz wykazie stosowanych skrótów i oznaczeń, bardzo pomocnych w lekturze rozprawy, zamieszczone zostały streszczenia w językach polskim oraz angielskim, w celu sprostania wymogom formalnym. Część wstępna, nazwana przez Autorkę teoretyczną, występująca jako rozdział I., posiada charakter przeglądu literaturowego obejmującego zagadnienia związane z modelami chorobowymi dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, składników krwi oraz spektroskopii absorpcyjnej w podczerwieni z transformatą Fouriera (FTIR). W moim odczuciu, sposób w jaki zredagowany został ten rozdział, doskonale spełnia funkcję wprowadzenia w tematykę badawczą podejmowaną w ramach rozprawy. Rozdział ten jest na tyle informatywny, iż polecany być może młodym adeptom nauki jako cenna lektura wprowadzająca. Cele pracy doktorskiej sformułowane zostały w ramach krótkiego rozdziału II. pt. „Cele pracy”. W ramach bardzo obszernego rozdziału III., opatrzonego nazwą „Część eksperymentalna”, przedstawione zaś zostały zarówno zagadnienia metodyczne jak i prezentacja wyników badań i ich dyskusja. Zawarte w tej części opisy modeli zwierzęcych, przygotowania próbek do badań spektroskopowych oraz informacje dotyczące stosowanych parametrów pomiarowych są, moim zdaniem, na tyle obszerne, iż umożliwiają przeprowadzenie analogicznych eksperymentów. W tym miejscu swojej oceny chciałbym zwrócić uwagę na dodatkowe zastosowanie w prowadzonych badaniach techniki mikroskopii sił atomowych (AFM) do analizy topografii powierzchni oraz właściwości mechanicznych próbek przygotowywanych do badań spektroskopowych. Przy okazji, sformułuję może pytanie dotyczące sposobu przygotowywania próbek na drodze nanoszenia osocza na podłoże stałe poprzez suszenia nad płomieniem (str. 60). Czy mamy pewność, że efekt termiczny w stosunku



do składników krwi nie zmienia ich właściwości, mających obraz w widmach FTIR? Podrozdział 7. rozdziału III., zatytułowany „Wyniki i dyskusja” zredagowany został w oparciu o podstrukturę odzwierciedlającą realizację poszczególnych zadań badawczych odpowiadających analizom FTIR osocza krwi dla mysiego modelu cukrzycy, modelu nadciśnienia tętniczego oraz surowicy krwi dla szczurzego modelu nadciśnienia płucnego. Opracowanie wyników przeprowadzone zostało, w mojej opinii, w zgodzie z najwyższymi standardami, uwzględniającymi statystykę i niepewności pomiarowe, z zastosowaniem nowoczesnych metod chemometrycznych: analizy skupień oraz analizy głównych składowych (PCA, Principal Component Analysis, ang.). Znaczną wartość ma również, moim zdaniem, dyskusja wyników, prowadzona równoległe z ich prezentacją i interpretacją. Precyzja sformułowań oraz erudycja, to cechy które mógłbym na podstawie lektury dyskusji w rozprawie doktorskiej przypisać jej Autorce. Podsumowanie uzyskanych rezultatów znalazło swoje miejsce w rozprawie doktorskiej w ramach rozdziału IV. pt. „Wnioski końcowe”. Rozprawę zamyka, wykaz cytowanego piśmiennictwa, jako nienumerowany rozdział „Literatura”, oraz „Aneks” prezentujący dodatkowo znaczny ładunek wyników spektroskopowych, wzmacniających zasadnicze tezy rozprawy.

W pełni zgadzam się w głównymi osiągnięciami pracy doktorskiej, wyartykułowanymi przez Autorkę rozprawy w ramach rozdziału IV. Zdecydowanie, ogromnej rangi oryginalnym osiągnięciem naukowym jest przedstawienie markerów spektroskopowych widm FTIR osocza krwi, w połączeniu z analizą chemometryczną, stwarzających nowe możliwości szybkich i niskokosztowych badań diagnostycznych w kierunku wykrycia cukrzycy, nadciśnienia tętniczego oraz nadciśnienia płucnego. Ponadto, w ramach pracy doktorskiej opracowano i poddano optymalizacji procedury pomiarowe związane zarówno z przygotowaniem próbek jak i samych wariantów pomiarów spektroskopii IR (technika transmisyjna, versus technika transfleksyjna, versus ATR, attenuated total reflection, ang.). Podkreślić należy również, iż wiele z oryginalnych wyników zaprezentowanych prac badawczych poszerzyło granice naszego poznania w obszarze zmian na poziomie biochemicznym, towarzyszących analizowanym jednostkom chorobowym.

Rozprawa doktorska pani mgr Eweliny Staniszewskiej-Ślęzak jest również opracowaniem wyjątkowo dobrze przygotowanym w aspekcie jakości grafik oraz edycji tekstu. Mógłbym może zaproponować Autorce nieliczne korekty. Oto ich krótka lista:



1. str. 25., 12. wiersz od dołu, część zdania „za zadanie produktów sekrecji na zewnątrz” proponuję uzupełnić o słowo „usuwanie”,
2. str. 29., 15. wiersz od dołu, w nawiasie, zamiast „rycinie” proponuję „rycina”,
3. str. 45, 12. wiersz od góry, zamiast „widm” raczej „widma”,
4. str. 50., 9. wiersz od góry, „wysoką” zamiast „na wysoką”,
5. str. 52., 3. wiersz od góry, „pasma” w miejsce „pasm”,
6. str. 52., 15. wiersz od dołu, „szybka” w miejsce „szyba”,
7. str. 53., 7. wiersz od góry, proponuję „wymienić” zamiast „wymień”,
8. str. 74., 2. wiersz od dołu, będzie raczej „profilu spektralnym” zamiast „profil spektralny”,
9. str. 142., 3. wiersz od dołu, chyba raczej „Położenia” zamiast „Położenie”,
10. str. 144., 2. wiersz od dołu, „liczby płytek” zamiast „liczby płytkę”,
11. str. 153., 10. wiersz od dołu, „większym” w miejsce „większy”.

Tak obszerne i wieloaspektowe opracowanie, jakim znajduję rozprawę doktorską pani mgr Emilii Staniszewskiej-Ślęzak, dostarcza wielu informacji, pobudzając jednocześnie ciekawość poznawczą. Przykładem tego mogą być następujące pytania:

1. W moim odczuciu, bardzo interesującą jest obserwacja, iż nadciśnienie płucne łączy się z większym procentowym udziałem konformacji β -kartki (zarówno równoległej jak i antyrównoległej) w stosunku do nadciśnienia systemowego i cukrzycy, w których formę dominującą stanowi α -helisa (obserwacja dyskutowana na str. 153.). Ciekaw jestem, czy można ten efekt przypisać różnicom w stężeniach konkretnych białek i czy może mieć to związek z etiologią badanych schorzeń?
2. Bardzo precyzyjne analizy widmowe, prezentowane w rozprawie, opierają się w znacznej mierze na porównywaniu drugich pochodnych oryginalnych widm absorpcyjnych, w których minima odpowiadają położeniom maksimum pasm absorpcyjnych. Ciekaw jestem, czy w przypadkach, w których obserwowane były najbardziej wyraziste zmiany (np. Ryc. 39, str. 140), możliwa byłaby analiza widm różnicowych samych widm absorpcyjnych (nie zaś drugich pochodnych), które,



na przykład, mogły by być porównane z widmami różnicowymi innych próbek bądź też widmami absorpcji IR wyizolowanych składników białkowych osocza?

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż pani mgr Emilia Staniszewska-Ślęzak przedstawiła bardzo wartościową rozprawę doktorską, opierającą się na wynikach doskonale zaprojektowanych oraz precyzyjnie przeprowadzonych badań eksperymentalnych. Znaczna część wyników tych badań ogłoszona została już równolegle w cyklu czterech oryginalnych prac eksperymentalnych, opublikowanych w opiniotwórczych czasopismach specjalistycznych o międzynarodowym zasięgu. Swój warsztat naukowy w obszarze biospektroskopii, Doktorantka doskonaliła również w innych badaniach, nie związanych bezpośrednio z tematyką rozprawy doktorskiej, których wyniki zamieszczone zostały w kilku wartościowych publikacjach. W mojej ocenie, rozprawa doktorska przedstawiona przez panią mgr Emilię Staniszewską-Ślęzak spełnia z nadmiarem warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2014 r. poz. 1852 oraz z 2015 r. poz. 249 i 1767). Co więcej, w moim odczuciu, walory samej rozprawy, w szczególności zaś ogromna liczba rezultatów oraz ich znaczenie w obszarze kształtowania nowych możliwości szybkiej i wiarygodnej diagnostyki medycznej, sprawiają iż rozprawę doktorską postrzegam jednoznacznie jako wyróżniającą. Gratulując Doktorantce oraz Paniom Profesor, Promotor i Promotor pomocniczej, tak wartościowych rezultatów uprzejmie proszę Wysoką Radę Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie panią mgr Emilię Staniszewską-Ślęzak do dalszych etapów postępowania doktorskiego.