

Gliwice, 19.07.2022r.

Prof. dr hab. n. fiz. Krzysztof Ślosarek
Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej – Curie,
Państwowy Instytut Badawczy
Oddział Gliwice

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Kielboń

*Mikrokalorymetryczne profile denaturacji surowicy krwi ludzkiej
poddanej działaniu promieniowania jonizującego*

Rozprawa doktorska pani mgr inż. Agnieszki Kielboń „Mikrokalorymetryczne profile denaturacji surowicy krwi ludzkiej poddanej działaniu promieniowania jonizującego” spełnia wymogi Rozporządzenia 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, dlatego wnoszę do Rady Wydziału Nauk Ścisłych i Technicznych, Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, o dopuszczenie pani mgr inż. Agnieszki Kielboń do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki fizyczne.

Uzasadnienie

Celem dysertacji „Mikrokalorymetryczne profile denaturacji surowicy krwi ludzkiej poddanej działaniu promieniowania jonizującego” pani Agnieszki Kiełboń jest ocena wpływu promieniowania jonizującego: neutronowego i fotonowego na roztwory surowicy krwi. Efekty badane były metodą skaningowej kalorymetrii różnicowej oraz częściowo spektrometrii UV-VIS. Dane literaturowe potwierdzają fakt, że taki związek istnieje. Można stwierdzić, że istnieje różnica pomiędzy badanymi próbkami, które zostały poddane działaniu promieniowania jonizującego, a tymi które nie pochłonęły dawki promieniowania. Co więcej, można zauważyć wpływ czasu po jakim bada się próbki na analizowane „widma” otrzymane w badaniu kalorymetrią różnicową. Wyniki badań wskazują na podobieństwo odpowiedzi na promieniowanie jonizujące do procesów biochemicznych związane ze starzeniem się. Zatem, wydaje się, że podjęcie tego typu badań jest jak najbardziej uzasadnione. Opracowane i przedstawione w pracy metody, być może w przyszłości, będą mogły być wykorzystane w diagnostyce czy też ocenie efektów związanych z radioterapią.

Analiza pracy

Recenzowana praca doktorska ma typowy dla prac naukowych charakter: wykaz stosowanych skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz rozdziały: cel pracy, wstęp teoretyczny, materiał i metoda, wyniki, dyskusja, wnioski literatura oraz spis rysunków i tabel. Razem 121 stron. „Celem pracy było zbadanie wpływu promieniowania jonizującego na roztwory surowicy krwi ludzkiej przy użyciu metody skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC)”. Warto, aby w tym miejscu Doktorantka wyraźnie zaznaczyła, że realizuje co najmniej dwa cele szczegółowe. Jest to ocena, monitorowanie efektów bezpośrednich oraz długofalowych. Wstęp teoretyczny – 20 stron jest bardzo przystępnie napisany. Zawiera wiele informacji tematycznie związanych z zagadnieniami, które są przedmiotem tej pracy. W rozdziale „Materiał i metodyka,” 12 stron, Pani Kiełboń opisuje co jest materiałem badawczym. Są

nim pobrane od zdrowych osób próbki krwi. Opisuje w jaki sposób zostały one przygotowane do napromieniania wiązką neutronów i fotonów. Opis aparatury pomiarowej: mikrokalorymetru i spektrometru jest wystarczający do rozumienia w jaki sposób Doktorantka przeprowadzała pomiary próbek. Zakończeniem tego rozdziału jest przedstawienie testów statystycznych jakie będą stosowane w analizie otrzymanych wyników. Rozdział czwarty - wyniki, 39 stron. Znajdujemy w nim wyniki wpływu promieniowania neutronowego i fotonowego na badane roztwory surowicy krwi. Każdy podrozdział dotyczący różnych rodzajów promieniowania jest w taki sam sposób zredagowany. Dyskusja – rozdział dziesięciostronicowy jest rozszerzeniem wyników o dane wcześniej nieanalizowane. Wydaje się, że najważniejszy jest opis, który dotyczy efektów związanych z wpływem czasu jaki upłynął od napromienienia do odczytu. Z dwóch powodów; różnice pomiędzy próbkami nienapromienionymi i napromienionymi po dłuższym czasie są „wyraźniejsze”. Ponadto, można badać efekt bardzo podobny do starzenia się roztworu surowicy. Być może, w przyszłości ten właśnie efekt będzie wykorzystywany w diagnostyce. Wnioski – odpowiadają, pytania postawione w celu pracy. Zakończeniem jest bibliografia i spis rycin oraz tabel.

Uwagi edytorskie

Praca z punktu widzenia edytorskiego jest przygotowana bardzo starannie. Nie znajdujemy błędów literowych, czy stylistycznych. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt niezgodności numeracji stron w spisie treści oraz faktycznej numeracji stron; np. rozdział wynik. Na stronie 31 Doktorantka pisze „*Od wielu lat promieniowanie jonizujące jest szeroko stosowane do sterylizacji i modyfikacji żywności. Procedura ta pozwala na podniesienie jakości i wydłużenie okresu przydatności do spożycia wielu produktów. Dawki najczęściej stosowane w takim przypadku oscylują na poziomie kilkudziesięciu kGy, zaczynając od 1 kGy do nawet 70 kGy [Cieśla et al. 2007, 2010].*

Uważa się, że dawki z zakresu od 1 Gy wzwyż są w stanie wpływać na interakcje oraz strukturę białek [Reisz et al. 2014]. Wybrany, do badań w ramach niniejszej pracy, został zakres dawek promieniowania rentgenowskiego od 5 Gy do 120 Gy. Dawki od 8 Gy do 15 Gy są najczęściej stosowane jako dawki frakcyjne w radioterapii stereotaktycznej”. Przyznaję, że tak płynne przejście od sterylizacji

żywności do radiochirurgii jest dla mnie niezrozumiałe. Proponuję, aby w przyszłych pracach Pani Kielboń starannie przemyślała, co chce przekazać czytelnikowi.

W spisie treści strona 50, w rzeczywistości 49. Sposób przedstawienia bibliografii utrudnia „poruszanie” pomiędzy odnośnikami w tekście i pozycją w bibliografii.

Uwagi merytoryczne

Zasadniczym celem recenzowanej pracy jest porównanie efektów w roztworze surowicy krwi, jakie wywołane są przez dwa rodzaje promieniowania jonizującego. Wiązkę neutronów i fotonów. Dziwi jednak fakt, że Doktorantka zastosowała różne dawki dla obu analizowanych wiązek, rodzajów promieniowania. Dla promieniowania neutronowego 5, 10 i 13 Gy, podczas gdy dla promieniowania fotonowego – 5, 10, 30, 70 i 120 Gy. O ile dawki rzędu 30 Gy i więcej wymagałaby bardzo długiego czasu napromieniania źródłem neutronowym, to 13 Gy w przypadku promieniowania fotonowego można by uzyskać bez większych problemów. Celowo użyłem dawka „rzędu 30 Gy”, ponieważ sposób napromieniania próbek pozostawia wiele do życzenia. Napromienianie próbek w powietrzu, bez zapewnienia równowagi elektronowej nie może być uważane za „zgodne ze sztuką dozymetryczną”. Dobrze, że wszystkie pomiary wykonywane były w tych samych warunkach, dlatego można porównywać je między sobą. Chociaż, niepewność tak wykonanego eksperymentu powinna być brana pod uwagę. Byłbym jednak bardzo ostrożny, co do wartości dawki. Ponadto, Doktorantka nie pisze w jaki sposób zdefiniowano dawkę w systemie planowania leczenia. Czy jest to wartość dawki w punkcie, średnia w objętości ?? Na stronie 40 Doktorantka pisze „*moc dawki wynosiła 450 JM/min*”. W fizyce, moc dawki wyrażona jest w Gy/min (lub w jednostkach pochodnych), zmierzona w ściśle określonych warunkach. Mówiąc o JM/min. w radioterapii lepiej jest używać pojęcia „moc wiązki”. Różnice pomiędzy wpływem rodzaju promieniowania na efekty biochemiczne pojawiły się również w badanym materiale. Co jest zgodne z danymi literaturowymi. Dla promieniowania fotonowego badano wodne i buforowe roztwory surowicy krwi. Natomiast dla promieniowania neutronowego, tylko wodne roztwory. Dlaczego ? Na stronie 92

(rozdział dyskusja), Doktorantka pisze „Trudności pojawiające się przy próbie porównania efektów takiej samej dawki obydwóch rodzajów promieniowania jonizującego związane są zarówno z odmienną naturą promieniowania X i neutronowego (podstawową wielkością, która je różnicuje jest LET) jak i czynnikami eksperymentalnymi”. Właśnie to jest przedmiotem badań! Ponieważ mają one inną naturę i inaczej oddziałują z materią, chcemy wiedzieć jakie różnice wywołują. Na tej samej stronie czytamy „Porównanie efektów działania promieniowania neutronowego oraz rentgenowskiego jest trudne ze względu na niemożliwość zachowania takich samych czasów ekspozycji dla uzyskania określonej dawki.” Tak to prawda, jeżeli dysponujemy tylko źródłem, izotopem wytwarzającym promieniowanie neutronowe. Można by skorzystać z innych źródeł promieniowania neutronowego o porównywalnej mocy, co promieniowanie fotonowe generowane w akceleratorze biomedycznym. Ta sama uwaga dotyczy również mocy dawki generowanej przez akcelerator, która można zmienić, tak aby różne dawki podawane były w tym samym czasie. W ten sposób można by ocenić wpływ „czasu starzenia” się roztworu. We wnioskach Pani mgr Agnieszka Kielboń pisze „Uzyskane wyniki mogą się przyczynić do wyjaśniania mechanizmów stojących za skutecznością radioterapii, co w perspektywie rozwoju radioterapii personalizowanej może okazać się szczególnie ważne, nie tylko pod względem wyboru dawki frakcyjnej, ale również typu zastosowanego promieniowania jonizującego.” Wniosek zupełnie nieuzasadniony, ponieważ recenzowanej dysertacji Doktorantka nie analizowała tego problemu.

Pytanie do Doktorantki

1. Strona 39; wzór 15 zawiera „odległość od źródła”. Proszę o wyjaśnienie: do powierzchni próbki ? środka próbki ?
2. Na stronie 62 Doktorantka pisze „W przypadku ekspozycji na promieniowanie X proces napromieniowania trwał zaledwie 1 lub 2 minuty (dawka 5 lub 10 Gy) co oznacza, że efekt starzenia się roztworu surowice w tym czasie można zaniedbać....”. Czy Nie można była tak wybrać mocy wiązki, aby czasy napromieniania były równe, niezależnie od podanej dawki ? Umożliwiłyby to wyeliminowanie wpływu efektu starzenia na wyniki.

3. Strona 76: Dlaczego do analizy statystycznej Doktorantka użyła testu Friedmana ?
4. Strona 80, rysunek IV.19; jak krzywe DSC wyglądają po 2, 3 tygodniach ?
5. Na stronie 81 czytamy, że dla promieniowania neutronowego próbki napromieniane dawką 5 Gy wykazywały duży efekt egzotermiczny po 3-4 tygodniach. A w następnym podrozdziale dotyczącym promieniowania rentgenowskiego, w zakresie dawek 5 i 10 Gy, analizuje efekty po 1, 2 i 3 tygodniach. Dlaczego nie zastosowano tego samego czasu do odczytu krzywych? dla obu rodzajów promieniowania.

Krzysztof Ślosarek