



KATEDRA  
BIOFIZYKI

Lublin, 29 września 2022 r.

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

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Kiełboń  
pt. „Mikrokalorymetryczne profile denaturacji surowicy krwi ludzkiej poddanej  
działaniu promieniowania jonizującego”**

Wpływ promieniowania jonizującego na żywe organizmy oraz w szczególności na podstawowe grupy biomolekuł wydaje się stanowić ważny jak również bardzo interesujący problem z punktu widzenia wielu obszarów aktywności człowieka włączając, medycynę nuklearną, podróże kosmiczne (a nawet samolotowe) oraz bezpieczeństwo i higienę pracy. Wiele technik badawczych wykorzystywanych było tradycyjnie w ocenie skutków ekspozycji żywych komórek oraz ich składników na promieniowanie jonizujące. Większość ze stosowanych podejść metodologicznych bazowało na analizach chemicznych produktów degradacji materiału biologicznego. W ramach rozprawy doktorskiej pani mgr inż. Agnieszki Kiełboń podjęto próbę nowatorskiego wykorzystania mikrokalorymetrii różnicowej (DSC) do analizy wpływu promieniowania jonizującego na białka obecne w surowicy krwi człowieka. W mojej

ocenie próba ta okazała się udana, zaś uzyskane rezultaty przyniosły wiele interesujących obserwacji i konkluzji niemożliwych do osiągnięcia przy stosowaniu innych podejść metodologicznych.

Praca doktorska pani mgr inż. Agnieszki Kielboń wykonana została w Instytucie Fizyki im. Augusta Chełkowskiego, na Wydziale Nauk Ścisłych i Technicznych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach pod kolektywny kierunkiem pani prof. Anny Michnik, jako promotora oraz pani dr Kingi Polaczek-Grelik pełniącej rolę promotora pomocniczego. Praca zredagowana została w języku polskim, na 122 stronach standardowego maszynopisu, w oparciu o przejrzysty schemat. Po spisie treści, wykazie stosowanych skrótów i oznaczeń oraz streszczeniach, w języku polskim oraz angielskim, zamieszczony został króciutki rozdział I. pt. „Cel pracy”. Rozdział II. pt. „Wstęp teoretyczny” spełnia bardzo dobrze, moim zdaniem, funkcję wprowadzenia w tematykę rozprawy, zarówno od strony materiału biologicznego (charakterystyka surowicy krwi ludzkiej), jak i stosowanej metodyki prowadzonych badań (charakterystyka promieniowania jonizującego oraz zastosowanej techniki pomiarowej DSC). Szczegóły eksperymentalne przeprowadzonych badań zaprezentowane zostały w ramach rozdziału III. pt. „Materiał i metodyka”. W moim odczuciu poziom szczegółowości tego rozdziału w pełni odpowiada standardom prac naukowych. Na podkreślenie zasługuje wszechstronność oraz klarowność opisów dotyczących mikrokalorymetrii różnicowej, których lektura może być rekomendowana studentom oraz młodym adeptom nauki, na zasadzie wartościowego wprowadzenia w tajniki tej tematyki badawczej. Najbardziej obszernym a zarazem najważniejszym rozdziałem rozprawy, stanowiącym o jej wysokim poziomie, jest rozdział IV. pt. „Wyniki”. Rozdział ten zredagowany został w oparciu o podstrukturę odpowiadającą poszczególnym etapom projektu doktorskiego. Wśród głównych realizowanych zadań badawczych znalazły się, między innymi, analizy zmienności osobniczej w rejestrowanych termogramach DSC, badania bezpośrednich efektów promieniowania rentgenowskiego oraz neutronowego na surowicę oraz analizy procesów „starzenia się” próbek surowicy poddanych działaniu promieniowania. Uzyskane wyniki poddane

zostały pogłębionej analizie oraz wieloaspektowej dyskusji w ramach rozdziału V. pt. „Dyskusja”. Najważniejsze uzyskane wyniki dodatkowo zestawione zostały w ramach rozdziału VI. pt. „Wnioski”. Rozprawę zamyka wykaz cytowanego piśmiennictwa, prezentowany w ramach rozdziału VII. pt. „Literatura” oraz spisy rysunków (Rozdział VIII) oraz tabel (Rozdział IX). Praca napisana została precyzyjnym i klarownym językiem, z dużą dbałością o poprawność edycyjną jak i stronę graficzną. W całym, tak obszernym opracowaniu nasunęły mi się jedynie nieliczne tzw. „literówki”.

W zupełności zgadzam się z wnioskami z przeprowadzonych badań, wyartykułowanymi przez Doktorantkę w ramach rozdziału VI. W mojej opinii, Doktorantka w sposób przekonujący pokazała możliwości zastosowania techniki DSC w analizach wpływu promieniowania jonizującego na bardzo istotne z fizjologicznego punktu widzenia składniki krwi człowieka, jakimi są białka surowicy. Autorka rozprawy zaproponowała również ścieżki interpretacji tego typu wyników, które stanowią mogą kanon monitorowania efektów poradiacyjnych, na przykład w zabiegach medycyny nuklearnej w terapii antynowotworowej.

Praca doktorska pani mgr inż. Agnieszki Kiełboń, jako opracowanie bardzo obszerne i wieloaspektowe, rodzi również wiele pytań natury poznawczej. Niektóre z nich postarałem się sformułować poniżej.

1. Większość efektów promieniowania jonizującego na białka surowicy krwi, które identyfikowane były na drodze analizy kalorymetrycznej DSC Autorka przypisała reorganizacji struktury przestrzennej białek, włączając w to procesy ich agregacji. Intuicyjnie, w pełni zgadzam się z tak przedstawioną interpretacją. Z drugiej strony, zastanawiam się, czy nie warto byłoby poddać równolegle, te same próbki szybkim analizom spektroskopowym, bądź to z wykorzystaniem techniki dichroizmu kołowego (CD) bądź spektroskopii FTIR, które dają bezpośredni niemalże wgląd w strukturę oraz organizację molekularną białek? Spodziewam się, iż analizy takie wzmocniły by istotnie

interpretację rezultatów zaprezentowanych w rozprawie. Ciekaw jestem jakie jest zdanie doktorantki na ten temat?

2. Bardzo interesującym wydaje mi się efekt pojawiania się na termogramach, jeszcze w zakresie niskich temperatur, ze znaczną amplitudą, ujemnych składowych w surowicy wyeksponowanej na promieniowanie jonizujące. Składowe te, odpowiadające procesom egzotermicznym, zinterpretowane zostały w kategoriach formowania struktur zagregowanych przez fragmenty białek uległe rozkładowaniu na wskutek aktywności denaturacyjnej promieniowania. Ciekaw jestem, czy możliwe jest, że w trakcie rejestracji termogramów struktury te ulegają dekompozycji (rozagregowaniu) przy wyższych temperaturach? Taki proces mógłby mieć miejsce niezależnie od degradacji termicznej białek w trakcie analizy DSC w obszarze bardzo wysokich temperatur, co prowadzić może do kolejnego formowania struktur zagregowanych rozkładanych białek i ujemnych składowych w wysokotemperaturowym fragmencie zależności DSC.
3. Zastanawiam się, czy możliwym jest iż podwyższenie rozpraszania typu Rayleigha w zarejestrowanych widmach absorpcyjnych UV-Vis (np. Rysunek IV.23, str. 87) wskazuje na fragmentację białek surowicy związaną z jej ekspozycją na promieniowanie jonizujące?
4. Znamienne, a nawet zaskakujące wydają mi się różnice w profilach DSC rejestrowanych z tych samych frakcji surowicy krwi w zależności od tego czy rozpuszczone były w wodzie czy też buforze o pH 7,4. Zastanawiam się czy nie jest to efekt siły jonowej zastosowanego buforu PBS. Ciekaw jestem czy Doktorantka ma pomysły, w jaki sposób można by to sprawdzić?

## *Konkluzja*

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż pani mgr inż. Agnieszka Kiełboń przedstawiła bardzo wartościową rozprawę doktorską, opierającą się na wynikach precyzyjnie zaprojektowanych oraz starannie przeprowadzonych przez nią prac badawczych. Uzyskane wyniki poddane zostały wieloaspektowej analizie oraz dyskusji w oparciu o liczne i aktualne pozycje piśmiennictwa, co pozwala wnioskować o erudycji Doktorantki i jej bardzo dobrym warsztacie naukowym. Część przedstawionych w ramach rozprawy wyników ogłoszona została równoległe w dwóch publikacjach, które ukazały się w międzynarodowych czasopismach specjalistycznych.

Moim zdaniem, przedstawiona przez panią mgr inż. Agnieszkę Kiełboń rozprawa doktorska zawiera rozwiązania aktualnych, interesujących oraz ważnych problemów naukowych, wnosi do nauki światowej znaczący postęp, spełniając tym samym wymagania stawiane w postępowaniach doktorskich, czyniąc zadość warunkom określonym w art. 187. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r., poz. 478 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym, uprzejmie wnoszę o dopuszczenie pani mgr inż. Agnieszki Kiełboń do dalszych etapów postępowania doktorskiego, w szczególności do publicznej obrony.

