

Lublin, 8 stycznia 2018 r.

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

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Doroty Zalizacz pt. „Badanie hydratacji ludzkich tkanek keratynowych”

Woda stanowi powszechne, a zarazem unikalne ze względu na swoje właściwości fizykochemiczne, środowisko funkcjonowania organizmów żywych zamieszkujących naszą planetę. Potoczne stwierdzenie, które brzmi „życie wyszło z wody” powinno być zatem uzupełnione, iż życie nie tylko wyszło z wody ale również zabrało ją ze sobą. Odzwierciedla to fakt, iż woda stanowi ważny składnik organizmów żywych, typowo w przedziale 70-85 %, osiadać może nawet 95 %. Woda występować może w wyspecjalizowanych strukturach subkomórkowych, jak na przykład wakuole w komórkach roślinnych, ale podkreślić należy, iż bardzo ważna, z fizjologicznego punktu widzenia, jej frakcja występuje w formie związanej przez biomolekuły, stanowiąc o ich funkcjonalności w żywych organizmach. Na przykład, jedynie w środowisku wodnym lipidy formować mogą błony komórkowe a rozpuszczalne w wodzie białka pełnić mogą funkcje fizjologiczne związane z aktywnością enzymatyczną. W świetle powyższych uwag naturalny wydaje się nurt aktywności badawczej związany bezpośrednio z wyjaśnieniem mechanizmów molekularnych związanych z hydratacją cząsteczek o znaczeniu biologicznym.

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



Coraz częściej, w tę aktywność środowiska naukowego włączają się fizycy uzbrojeni w arsenał zaawansowanych metodologii oraz technik badawczych, umożliwiających uzyskiwanie unikalnych informacji, z niespotykaną dotychczas precyzją oraz rozmachem. W ten właśnie nurt wpisuje się rozprawa doktorska przedstawiona przez panią mgr Dorotę Zalitacz, poświęcona problemowi hydratacji białka keratyny występującej powszechnie w tkankach łącznych ludzkiego organizmu, w tym we włosach. W mojej ocenie, tematyka rozprawy jawi się więc nie tylko jako interesująca ale również ważna.

Praca doktorska pani mgr Doroty Zalitacz wykonana została pod kierunkiem dr. hab. Huberta Harańczyka, w Zakładzie Radiospektroskopii Instytutu Fizyki Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, w renomowanym ośrodku badawczym, który wniósł ogromny wkład do procesu pełnego poznania mechanizmów związanych z wiązaniem oraz aktywnością wody w żywych organizmach. Rozprawa doktorska zredagowana została w języku polskim, na 123 stronach standardowego maszynopisu, według typowego, optymalnego w moim odczuciu układu. Krótki, nienumerowany rozdział nazwany „Wprowadzenie” jest jednocześnie miejscem w którym zaprezentowany został główny cel rozprawy, którym było poznanie mechanizmów absorpcji wody przez włosy ludzkie. W kolejnych rozdziałach wstępnych, posiadających charakter opisów opartych na przeglądzie piśmiennictwa, Autorka dostarcza informacje na temat składu i struktury włosów (rozdział 1.), właściwości fizykochemicznych i makroskopowych wody (rozdział 2.) oraz badanych substancji egzogennych stosowanych do mycia i kondycjonowania włosów (rozdział 3.). W części opisowej zawarto również treści wprowadzające w problematykę związaną z metodologią przeprowadzonych badań, w szczególności, zaprezentowano elementy teorii magnetycznego rezonansu jądrowego (w ramach rozdziału 4.) oraz porównano aktualne teorie dotyczące procesów sorpcji i ich opisów (w ramach rozdziału 5.). Użyte w badaniach materiały oraz zastosowane procedury i metody opisane zostały przez Autorkę w rozdziale 6. „Materiały i metody”. W mojej ocenie, treści zawarte w tych opisach są na tyle precyzyjne, iż umożliwiają odtworzenie przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej eksperymentów. Najważniejszą częścią rozprawy, stanowiącą o jej oryginalności oraz wysokim poziomie merytorycznym, jest rozdział 7. „Wyniki”. Treści prezentowane w ramach tego rozdziału odpowiadają sekwencji zadań badawczych realizowanych w ramach projektu doktorskiego. W pierwszej kolejności, przedstawione zostały analizy procesu hydratacji włosów, w oparciu



o pomiary grawimetryczne, stanowiące podstawę do konstruowania zależności kinetycznych oraz izoterm sorpcyjnych. W dalszej części rozprawy, przedstawione zostały wyniki opierające się na precyzyjnych pomiarach magnetycznego rezonansu jądrowego, w dwóch wariantach tej metody: pomiary relaksacyjne $^1\text{H-NMR}$ oraz spektroskopia $^1\text{H-NMR}$. Prezentację wyników badań uzupełniły analizy obrazów mikroskopowych włosów, zarejestrowanych z zastosowaniem techniki SEM. Dyskusja uzyskanych wyników przeprowadzona została w ramach rozdziału 8., zaś rozdział 9. zawiera zestawienie najważniejszych wniosków uzyskanych z przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej prac badawczych. Rozprawę zamyka wykaz cytowanych pozycji piśmiennictwa (jako rozdział 10. „Literatura”), wykaz publikacji Autorki (rozdział 11.), spis rysunków (rozdział 12.) oraz spis tabel (jako rozdział 13.).

W pełni podzielam zdanie Doktorantki co do wskazania najważniejszych rezultatów rozprawy, wyartykułowanych w ramach rozdziału pt. „Wnioski”. Za szczególnie istotne uważam wykazanie istnienia różnych frakcji wody, związanych ze składnikami białkowymi włosów, charakteryzujących się różną siłą oddziaływania i pełniących prawdopodobnie odmienne funkcje fizjologiczne. Podanie precyzyjnych parametrów tych frakcji wody, zarówno na gruncie analizy sorpcyjnej jak i spektroskopii MRJ, umożliwi precyzyjne porównania mechanizmów molekularnych związanych z hydratacją różnych biomakromolekuł oraz różnych struktur morfologicznych występujących w żywych komórkach oraz organizmach.

Rozprawa doktorska pani mgr Doroty Zalicz jest również, moim zdaniem, opracowaniem przygotowanym z dbałością o poprawność językową oraz estetykę edytorską. Mógłbym zaproponować Autorce nieliczne korekty. Poniżej zamieszczam ich krótką listę:

1. Str. 10., 5. wiersz od dołu, „Cysteina ma” w miejsce „Cysteinama”,
2. Str. 16., 2. wiersz od góry, „korę” zamiast „kore”,
3. Str. 16., 4. wiersz od góry, „mają niską” w miejsce „maja niska”,
4. Str. 16., 5. wiersz od góry, „też” zamiast „tez”,
5. Str. 21., 7. wiersz od dołu, „wiązania” zamiast „wiązanie”,
6. Str. 21, 4. wiersz od dołu, chodziło zapewne o strukturę drugorzędową nie zaś o strukturę trzeciorzędową,
7. Str. 24., 10. wiersz od dołu, „Białko fibroina składa” zamiast „Białko fibroiny składają”,



8. Str. 25., 5 wiersz od góry, proponuję znak „÷” zamiast „=”,
9. Str. 33., 8. wiersz od góry, proponuję „Tesli” zamiast „tesli”,
10. Str. 65., 2. wiersz od góry, słowo „przez” wydaje się zbędne,
11. Str. 65., 9. wiersz od góry, „oczyszczania” zamiast „oczyszczaniem”,
12. Str. 75., 1. wiersz od góry, „melaniny” zamiast „melani”,
13. Str. 80., Rys. 29., podpis osi odciętych po prawej stronie: powinno być raczej $\Delta m/m_0$ zamiast m/m_0 .

Tak wieloaspektowe oraz obszerne opracowanie, jakim znajduję rozprawę doktorską mgr Doroty Zalitacz, dostarcza wielu ważnych i nowych informacji pobudzając jednocześnie ciekawość poznawczą. Wyrazem tego mogą być następujące pytania:

1. Rysunek 26. na str. 77. przedstawia wyniki precyzyjnych analiz zależności hydratacyjnych czasów relaksacji spinowo-spinowej. Ciekaw jestem, czy Doktorantka podziela moje spostrzeżenie, że składowa L2 ulega skokowej zmianie w rejonie hydratacji odpowiadającemu poziomowi $\Delta m/m_0$ 0.1? Jeśli tak, to chciałbym ośmielić do spekulacji, jaki mógłby być tego mechanizm oraz ewentualne skutki biologiczne?
2. Bardzo podoba mi się, zamieszczona na stronach rozprawy, analiza frakcji hydratacyjnych na podstawie złożoności widm $^1\text{H-NMR}$ (np. rys. 29, str. 80). Interesujący efekt zmiany szerokości linii widmowej odpowiadającej składowej opisywanej funkcją Lorentza, przy różnych poziomach hydratacji, interpretuje się jako efekt superpozycji dwóch składowych. Z drugiej strony, intuicja podpowiada mi, że tak znaczna różnica szerokości pasm opisywanych funkcją Lorentza oraz Gaussa (co najmniej jeden rząd wielkości) powinna zabezpieczać przed wpływem kształtu jednej składowej na drugą. Wówczas, zmiana szerokości pasma odpowiadającego cząsteczkom wody bardziej ruchliwym mogłaby reprezentować realny proces formowania różnorodnych klastrów wody słabiej związanej. Zastanawiam się czy, na przykład, dekonwolucja widm na składowe mogłaby jednoznacznie przynieść rozwiązanie tego problemu?



Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż pani mgr Dorota Zalicz przedstawiła bardzo wartościową rozprawę doktorską, opierającą się na wynikach precyzyjnie zaprojektowanych oraz starannie przeprowadzonych badań eksperymentalnych. Znaczna część wyników tych badań ogłoszona została już równolegle w artykule opublikowanym w czasopiśmie *Journal of Investigative Dermatology*. Ponadto, Doktorantka doskonaliła swój warsztat naukowy w trakcie realizacji innych, zbliżonych zadań badawczych, których wyniki opublikowane zostały z Jej współautorstwem w trzech innych artykułach ogłoszonych w międzynarodowych czasopismach specjalistycznych. W mojej ocenie, rozprawa doktorska przedstawiona przez panią mgr Dorotę Zalicz spełnia w zupełności 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). Gratulując tak wartościowych rezultatów uprzejmie wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie panią mgr Dorotę Zalicz do dalszych etapów postępowania doktorskiego, w szczególności do publicznej obrony.