

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Sylwii Orzechowskiej
„Fizykochemiczna charakterystyka mineralizacji struktur kolagenowych”

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Sylwii Orzechowskiej powstała pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Eugeniusza Rokity z Zakładu Biofizyki, Katedry Fizjologii w Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Praca została wykonana (1) na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego, (2) w Zakładzie Biofizyki Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz (3) na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Głównym celem pracy była fizykochemiczna i morfologiczna analiza depozytów mineralnych w tkankach miękkich. Praca ta ma ogromne znaczenie praktyczne. Podjęcie tej tematyki w rozprawie doktorskiej przez Panią mgr Sylwię Orzechowską uważam za bardzo cenne.

Praca zawiera 9 rozdziałów:

Rozdział 1 – Wstęp: w sposób wyczerpujący opisuje: (a) proces fizjologicznej i patologicznej mineralizacji, (b) fizykochemiczne modele mineralizacji tkanek miękkich, (c) mineralizację struktur kolagenowych, (d) stenozę zastawki aortalnej i kanału kręgowego oraz (e) cel pracy. W tym rozdziale kandydatka podaje wyczerpujące odniesienia do literatury światowej. Dane literaturowe wskazują na udział hormonów w patogenezie kalcyfikacji co zostało w sposób wyczerpujący opisane w tym rozdziale.

Rozdział 2 – Materiały i Metody: w pracy przeanalizowano (a) 6 próbek kości beleczkowych pobranych od osób w wieku (24-81) lat, (b) 5 zębów pozyskanych od pacjentów w wieku (60 ± 5) lat, (c) 30 zastawek aortalnych pobranych od pacjentów w wieku (65 ± 11) lat oraz (d) 5 zastawek aortalnych pobranych sekcyjnie i (d) próbki 24 więzadeł żółtych z kręgosłupa lędźwiowego. Pobrane próbki poddano obróbce celem przeprowadzenia różnych analiz: (a) pomiarów mikrotomograficznych, (b) analizie z użyciem spektroskopii fluorescencji rentgenowskiej (XRF), (c) spektroskopii w podczerwieni z transformatą Fouriera (FTIR) oraz (d) dyfraktometrii rentgenowskiej (XRD). Dobór metod analitycznych był podyktowany dostępną kandydatce aparaturą jak również celem projektu. Technika mikrotomografii (μ -CT) pozwoliła kandydatce uzyskać trójwymiarowe obrazy z maksymalną zdolnością rozdzielczą $2.0 \mu\text{m}$ co jest opisane w rozdziale 2.2.1. Spektroskopia fluorescencji rentgenowskiej (XRF) pozwoliła na pomiar składu pierwiastkowego na poziomie kilku ppm (parts-per-million) dla pierwiastków ciężkich ($Z > 20$) i kilkudziesięciu ppm dla pierwiastków lekkich (Mg, P, S, Cl, K, Ca) i opisane jest to w rozdziale 2.2.2. Spektroskopia w podczerwieni (FTIR) pozwoliła otrzymać informacje o strukturze chemicznej związków i jest opisana w rozdziale 2.2.3. Dyfraktometria rentgenowska (XRD) pozwoliła wyznaczyć struktury krystalograficzne badanych substancji. Preparatyka próbek została przeprowadzona zgodnie z zaleceniami literatury światowej. Dobór technik pomiarowych uważam za właściwy do wykonania zadania. Kandydatka przeprowadziła analizę statystyczną wybranych wyników pomiarowych co dodaje dodatkowego pozytywnego wymiaru rozprawie doktorskiej.

Rozdział 3 – Wyniki pomiarów: w rozdziale 3.1 kandydatka opisała trójwymiarowe obrazy μ -CT które wykazały znaczną różnicę w budowie struktury beleczkowej pomiędzy grupą (24-



50) a grupa (70-81) lat. W tabeli 3.1 w rozdziale 3.1 kandydatka podała skład pierwiastkowy kości beleczkowej uzyskany techniką XRF wyniki z techniki FTIR. Rozdział 3.2 opisuje wyniki dla płatków zastawek aortalnych. Wyniki dla więzadła żółtego opisuje rozdział 3.3. Rozdział 3 pokazuje staranność w analizie uzyskanych danych eksperymentalnych.

Rozdział 4 – Dyskusja wyników: została przeprowadzona przez kandydatkę w sposób bardzo profesjonalny. Kandydatka zestawiała otrzymane wyniki z dostępnymi danymi literaturowymi w sposób kompetentny i krytyczny.

Rozdział 5 – Model mineralizacji struktur kolagenowych: jest bardzo cenną częścią pracy gdzie kandydatka opracowała model teoretyczny mineralizacji struktur kolagenowych. W obliczeniach modelowych kandydatka uwzględniła stężenie wolnych jonów wapnia. Jest to bardzo wartościowy rozdział w rozprawie doktorskiej gdyż pozwala na działania prewencyjne zapobiegające utracie elastyczności tkanek na skutek ich mineralizacji.

Rozdział 6 – Podsumowanie: kandydatka zaprezentowała w rozprawie uzyskane dane eksperymentalne, ich analizę i ocenę. Porównała uzyskane przez siebie dane z istniejącymi danymi literaturowymi w sposób kompleksowy i wyczerpujący w 11 punktach. W Dodatku do tego rozdziału opisany jest program BmpBinarizer który został stworzony przez kandydatkę.

Rozdział 7 – Bibliografia: jest odniesieniem otrzymanych wyników do wyników badań literaturowych.

Rozdział 8 – Streszczenie: kandydatka w sposób wyczerpujący odnosi się do przeprowadzonych do tej pory prac zarówno przez siebie jak i w literaturze. Kandydatka w sposób zwięzły wyciąga wnioski z otrzymanych badań

Rozdział 9 – Wykaz skrótów: ze względu na interdyscyplinarny charakter pracy ta informacja jest bardzo pomocna.

Praca jest napisana starannie, bez błędów językowych. Wszystkie pomiary i przygotowanie materiału doświadczalnego było przeprowadzone profesjonalnie i zgodnie z obowiązującymi zasadami.

Praca jako całość prezentuje się bardzo dobrze. Do mocnych stron pracy zaliczam:

- 1) Ważną i aktualną tematykę którą należałoby kontynuować.
- 2) Staranne przeprowadzenie pomiarów
- 3) Stosowanie poprawnych metod eksperymentalnych
- 4) Wnioski mające praktyczne zastosowanie

Część wyników została opublikowana w specjalistycznych czasopismach z list A (Journal of Bone and Mineral Metabolism – IF=2.472, Journal of Heart Valve Disease – IF= 0.715) o zasięgu międzynarodowym i sumaryczny IF = 3.187 co świadczy o randze przedstawionych wyników. Kandydatka opublikowała wyniki swojej pracy dodatkowo w 5 publikacjach z listy B oraz zaprezentowała na pięciu krajowych i trzech zagranicznych konferencjach.



Kandydatka uczestniczyła w pięciu krajowych grantach które finansowały część badań związanych z rozprawą doktorską. Jest możliwość dalszych publikacji z listy A z materiału zaprezentowanego w rozprawie doktorskiej stąd moja sugestia do kandydatki i promotora by te publikacje napisać w najbliższej przyszłości.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Sylwii Orzechowskiej spełnia ustawowe (Ustawa z dnia 14 marca 2003 roku wraz z poprawkami z 2016 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki) wymagania stawiane w przewodzie doktorskim i wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Sylwii Orzechowskiej do publicznej obrony.

Wnioskuje również o wyróżnienie pracy doktorskiej z następujących powodów:

- 1) Praca ma charakter interdyscyplinarny i jako taka znacznie przekracza przeciętny poziom rozpraw doktorskich tylko z obszaru nauk fizycznych czy tylko z obszaru nauk medycznych i nauk o zdrowiu oraz nauk o kulturze fizycznej,
- 2) Uwzględnia aktualne metody i narzędzia badawcze,
- 3) Posiada zastosowane i pogłębione analizy statystyczne wyników, znacznie wykraczające poza zwyczajowo przyjęte w rozprawach doktorskich,
- 4) W wybranym obszarze posiada istotne znaczenie użytkowe z możliwością wdrożenia.
- 5) Kandydatka jest pierwszym autorem 2 prac opublikowanych z IF.
- 6) Kandydatka samodzielnie przygotowała projekt badania i była jego głównym wykonawcą.



Dr hab. Marian Cholewa, prof. Uniwersytetu Rzeszowskiego