



KATEDRA
BIOFIZYKI

Lublin, 27 września 2022 r.

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

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Klaudii Duch
pt. „Różnicowa kalorymetria skaningowa jako nowatorska metoda w ocenie
efektów wspomagania treningu sportowego”**

Wydaje się nie budzić wątpliwości teza, iż postęp w obszarze projektowania oraz zwiększania precyzji aparatury naukowej wpływa istotnie, a nawet może warunkuje dynamiczny postęp w takich dziedzinach nauki jak fizyka, biologia czy medycyna. Rozprawa doktorska przedstawiona przez panią mgr inż. Klaudię Duch dobitnie wskazuje, iż katalog naszej aktywności badawczej, która korzysta w sposób niezwykle skuteczny z najnowszych innowacji w obszarze technik instrumentalnych właściwych fizyce molekularnej poszerzony być może o wspomaganie treningu sportowego oraz szerzej rozumianej medycyny sportowej oraz ocenie wydolności organizmu człowieka. W ramach pracy doktorskiej, technika różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) wykorzystana została z sukcesem do całościowej analizy zmian w proteomie osocza krwi, w warunkach stresu związanego ze znacznym wysiłkiem

fizycznym oraz w trakcie procesu regeneracji. W pełni podzielam pogląd Doktorantki, zawarty w tytule rozprawy, iż podejście takie jest nie tylko wartościowe, ale również nowatorskie!

Praca doktorska wykonana została pod kierunkiem pani prof. Anny Michnik w Instytucie Fizyki im. Augusta Chełkowskiego na Wydziale Nauk Ścisłych i Technicznych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Praca doktorska, jak i przedstawiona rozprawa, opierają się na uzyskanych wynikach badań ogłoszonych w sześciu opublikowanych już artykułach naukowych, których kopie zamieszczone zostały w ramach przygotowanego opracowania. Chciałbym jednak zaznaczyć, że rozprawa doktorska pani mgr inż. Klaudii Duch jest, w moim odczuciu, czymś więcej niż typową „zszywką”. Opatrzona została obszernym wstępem, zredagowanym na podstawie doniesień literaturowych, zawiera szczegółowe omówienie uzyskanych wyników, które opatrzone zostało wieloaspektową dyskusją. Ważnym elementem rozprawy są, moim zdaniem, deklaracje Doktorantki dotyczące jej wkładu do poszczególnych artykułów oraz zamieszczone kopie oświadczeń pozostałych współautorów określające ich udział w badaniach. Analiza tych oświadczeń pozwala wnioskować o istotnym, autorskim wkładzie Doktorantki, mogącym w pełni stanowić podstawę ubiegania się o stopień naukowy. W moim odczuciu, wszystkie zaprezentowane w ramach rozprawy artykuły posiadają znaczny walor nowości naukowej i oryginalności, wnosząc do nauki światowej wiele cennych informacji. Tekst autorski rozprawy, zredagowany przez Doktorantkę w języku polskim, cechuje się również precyzją sformułowań oraz starannością redakcyjną. Mógłbym zarekomendować Autorce dosłownie pojedyncze korekty językowe i wskazać pojedyncze tzw. „literówki”.

W zupełności zgadzam się z wnioskami z przeprowadzonych badań, wyartykułowanymi przez Doktorantkę w ramach rozdziału VI pt. „Podsumowanie”. W mojej opinii, szczególnego rezonansu w środowisku międzynarodowym spodziewać się można w związku z powiązaniem kształtu termogramów DSC białek obecnych

w surowicy krwi z intensywnością wysiłku w ramach treningu sportowego, w szczególności tego ekstremalnego jaki towarzyszy biegom długodystansowym. Bardzo interesujące, a czasami nawet zaskakujące są również, w mojej opinii, wnioski dotyczące wskazań co do sposobów wspomagania regeneracji organizmu sportowców na drodze zabiegów termicznych, w szczególności sauny (raczej przed niż po wysiłku!).

Praca doktorska pani mgr Klaudii Duch, jako znaczące osiągnięcie interdyscyplinarne, ożywia zapewne dyskusję i rodzi pytania natury poznawczej w obszarze wielu dyscyplin, włączając biofizykę białek, biologię medyczną oraz medycynę sportową. Wyrazem mojego zainteresowania przedstawionymi wynikami mogą być następujące, sformułowane poniżej pytania.

1. Znamienną wydaje się obserwacja, że wysiłek fizyczny łączy się zawsze ze zmniejszeniem udziału w termogramach białek osocza krwi w obszarach „niskotemperaturowych”, odpowiadających wkładowi albuminy. Osobiście, wydaje mi się mało prawdopodobne, że frakcja tego białka w osoczu krwi sportowców zmniejsza się. Czy możliwe jest, że wkład tego białka transportowego na termogramie przesuwają się w stronę wyższych temperatur w związku z wiązaniem substancji, które wydzielają się w organizmie w trakcie długotrwałego wysiłku? Może wiązanie takie stabilizuje dodatkowo strukturę białka podnosząc jego barierę na denaturację termiczną? Ciekaw jestem jakie jest zdanie Doktorantki na ten temat.
2. Bardzo interesującym wydaje mi się również efekt dryfu termogramów białkowych w kierunku wartości ujemnych pojemności cieplnej w wysokich (powyżej 80 °C) ale również często w niższych temperaturach. Wskazuje to na obecność procesów egzotermicznych, jak na przykład formowanie

agregatów białkowych. Osobiście spodziewałbym się tworzenia takich form organizacyjnych z rozfałdowanych w wysokich temperaturach łańcuchów polipeptydowych. Zastanawiam się jednak, czy wydzielanie hormonów stresu bądź nawet związków niskocząsteczkowych obecnych w osoczu w następstwie znacznego wysiłku fizycznego może mieć wpływ na formowanie struktur białkowych wyższych rzędów, dając przyczynek do ujemnych składowych w termogramach? Potencjalnie, obecność składowych procesów egzotermicznych mogłoby również wpływać na położenie na termogramie analizowanych maksimów odpowiadających procesom endotermicznym, jak rozfałdowywanie białek osocza. Ciekaw jestem zdania Doktorantki, czy taka obecność ujemnych składowych mogłaby być uwzględniona w analizach zarejestrowanych zależności DSC?

3. Bardzo wartościowe wydają mi się osobiście analizy bazujące na termogramach różnicowych uzyskanych na drodze odejmowania zależności DSC zarejestrowanych z próbek osocza pozyskiwanych od tych samych pacjentów, na przykład po wysiłku oraz przed wysiłkiem (między innymi Fig. 4 w pracy A3, str. 97 rozprawy). Czy fakt, że pole pod składową ujemną termogramu różnicowego odpowiada w pewnym przybliżeniu polu pod składową dodatnią można interpretować jako efekt modyfikacji pewnej określonej grupy białek, wpływający na wyższą stabilność termiczną struktury trzeciorzędowej oraz drugorzędowej? Wpływ taki mógłby być wywierany, na przykład, poprzez inny skład związków niskocząsteczkowych osocza.

Konkluzja

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż pani mgr inż. Klaudia Duch przedstawiła bardzo wartościową rozprawę doktorską, opierającą się na wynikach

dobrze zaprojektowanych oraz starannie przeprowadzonych zadań badawczych. Badania te wymagały wiedzy i umiejętności praktycznych w zakresie pracy z materiałem biologicznych oraz, przede wszystkim, prowadzenia precyzyjnych pomiarów mikrokalorymetrycznych, jak i ich interpretacji na gruncie fizyki molekularnej oraz biofizyki medycznej. Wyniki uzyskane w ramach realizacji projektu doktorskiego ogłoszone zostały drukiem w sześciu oryginalnych artykułach badawczych, opublikowanych w czasopismach międzynarodowych. Ponadto, Doktorantka doskonaliła swój warsztat naukowy w ramach innych projektów, których wyniki opublikowane zostały w dwóch innych artykułach nie wchodzą do pracy doktorskiej.

Moim zdaniem, przedstawiona przez panią mgr inż. Klaudię Duch 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. Klaudii Duch do dalszych etapów postępowania doktorskiego, w szczególności do publicznej obrony.

