



UNIwersytet Jagielloński
Wydział Chemii

30-060 KRAKÓW, ul. R. Ingardena 3
tel. (48-12) 633-56 00 fax (48-12) 634-56-01

OCENA

**rozprawy habilitacyjnej pt. „Rozwój metod jakościowego
i ilościowego mikro-obrazowania chemicznego tkanek
z zastosowaniem promieniowania X i ich wykorzystanie dla potrzeb
neuropatologii” oraz dorobku naukowego doktora nauk fizycznych
Magdaleny Szczerbowskiej-Boruchowskiej,
adiunkta na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii
Górnictwo-Hutniczej w Krakowie**

Sylwetka zawodowa

Dr Szczerbowska-Boruchowska ukończyła w 1997 roku studia na Wydziale Fizyki i Techniki Jądrowej, kierunku Fizyka Techniczna na Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie, uzyskując tytuł magistra inżyniera fizyki technicznej w zakresie fizyki medycznej i dozymetrii na podstawie pracy magisterskiej pod tytułem „Badanie liczby i aktywności makrofagów w biopsjach z guzów przed leczeniem”.

Po ukończeniu studiów, w roku 1997 podjęła studia doktoranckie na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, a następnie na Wydziale Fizyki i Techniki Jądrowej Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie. Studia doktoranckie ukończyła w roku 2003. Tytuł dysertacji doktorskiej to „Promieniowanie X w badaniach składu pierwiastkowego tkanek ośrodkowego układu nerwowego człowieka”, promotorem pracy był Pan prof. dr hab. inż. Marek Lankosz.

Po ukończeniu studiów doktoranckich podjął pracę na Wydziale Techniki Jądrowej AGH w Krakowie, kolejno na stanowisku: asystenta, a od roku 2004 adiunkta.

Działalność naukowa

Pierwsze badania naukowe zostały przeprowadzone przez Panią Szczerbowską-Boruchowską w ramach pracy magisterskiej, jakkolwiek wyniki tych badań nie zostały opublikowane.

Od momentu podjęcia studiów doktoranckich, habilitanta zajęła się oznaczaniem metali w tkankach pobranych z centralnego systemu nerwowego z wykorzystaniem promieniowania X w prowadzonych analizach (XRF, PIXE). Badania te prowadzone były w oparciu o nawiązaną współpracę naukową z Zakładem Neuropatologii Katedry Neurologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. W badaniach tych Autorka wykazała, że takie pierwiastki jak cynk, miedź, wapń i żelazo gromadzą się głównie w istocie szarej mózgu. Niewątpliwym osiągnięciem tych badań było opracowanie metody umożliwiającej badanie dużych obszarów mózgu, co ze względu neurologicznych jest bardzo istotne. Należy również zwrócić uwagę na to, że dr Szczerbowska-Boruchowska od początku prowadzenia badań dużą wagę przykładła do opracowania i walidowania opracowywanych metod analitycznych.

Przed uzyskaniem stopnia doktora opublikowała 2 prace o łącznym współczynniku oddziaływania (Impast Factor – IF 1,733).

Rozpoczęte w ramach pracy doktorskiej badania kontynuowała w następnych latach nadal we współpracy z Katedrą Neurologii CMUJ.

W pracy doktorskiej skoncentrowała się na oznaczeniach mikroelementów w różnych strukturach mózgu w przypadku choroby Parkinsona i stwardnienia zanikowego

bocznego i próbą ich powiązania z patogenezą tych schorzeń. Ze względu na rolę, jaka przypisuje się takim pierwiastkom jak: Ca, Cu, Fe, Mn i Zn w badanych jednostkach chorobowych Autorka poświęciła im główną uwagę. W pierwszym etapie zastosowała mikro i makroanalizę XRF z kolimacją wiązki, co umożliwiło analizę próbek o masie kilkuset miligramów i obrazowanie cienkich preparatów tkankowych.

W celu poprawy wykrywalności pierwiastków habilitanta w dalszych badaniach wykorzystwała promieniowanie synchrotronowe. Badania z zastosowaniem rentgenowskiej analizy fluorescencyjnej z wykorzystaniem promieniowania synchrotronowego były przeprowadzone dzięki nawiązaniu współpracy naukowej z European Synchron Radiation Facility (ESRF) w Grenoble. Stosując tą technikę habilitanta przeprowadziła analizę jakościową i ilościową w celu oceny zmiany składu pierwiastkowego w strukturach mózgu w poprzednio wymienionych jednostkach chorobowych. Zastosowaniu tak zaawansowanej techniki analitycznej pozwoliły na wykazanie różnic w składzie pierwiastkowym mózgu osób chorych na chorobę Parkinsona i stwardnienie zanikowe boczne, a osobami zdrowymi, co potwierdziło hipotezy o udziale pierwiastków śladowych w patogenezie tych schorzeń.

Dalsze badania z wykorzystaniem promieniowania synchrotronowego habilitanta kontynuowała w Laboratorium Synchrotronowym HASYLAB/DESY w Hamburgu.

W czasie pobytu w ESRF i HASYLAB/DESY brała udział w 5 projektach badawczych realizowanych w tych jednostkach.

W czasie studiów doktoranckich habilitanta zainteresowała się możliwości oznaczania cząsteczek biologicznych w różnych obszarach mózgu z zastosowaniem mikroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR-MS). Badania te obok obrazowania chemicznego tkanek mózgu z wykorzystaniem promieniowania X stanowią drugi obszar zainteresowań badawczych habilitantki i były realizowane we współpracy z ośrodkiem LURE przy synchrotronie Super-ACO w Orsay z finansowym wsparciem KBN (2 projekty badawcze).

Aktywność badawcza dr Szczerbowskiej-Boruchowskiej uległa intensyfikacji po uzyskaniu stopnia doktora. Badania te były kontynuacją prac realizowanych w ramach doktoratu. Przeprowadzone badania na większej ilości przypadków reprezentujących chorobę Parkinsona i stwardnienie zanikające boczne (projekt KBN) pozwoliło na wykazanie wyższych stężeń cynku, wapnia i żelaza w neuronach

istoty czarnej, a w przypadku choroby Parkinsona również neuronach istoty białej mózgu w porównaniu z grupą kontrolną. Badania te zostały również poszerzone o oznaczenia w próbach pobranych ze rdzenia kręgowego.

Cykl badań nad wykorzystaniem promieniowania X w neurobiologii został doceniony i wyróżniony nagrodą Prof. Zbigniewa Engela w roku 2006.

Badania nad obrazowaniem pierwiastków w tkance mózgowej były kontynuowane w kolejnych latach na synchrotronie BESSY II przy Helmutz-Zentrum w Berlinie i przy finansowym wsparciu MNiSW (grant).

Badani swoje habilitanta poszerzył o analizę form chemicznych pierwiastków stosując w tym celu spektroskopię absorpcji promieniowania w pobliżu krawędzi absorpcji. Badania te głównie dotyczyły żelaza na +2 i +3 stopniu utlenienia.

Badania prowadzone przez habilitantkę nie ograniczyły się tylko do badań klinicznych, ale objęły również eksperyment z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych i dotyczyły zmian składu pierwiastków w regionach dopaminozależnych mózgu szczura po elektrostymulacji nerwu błędnego. Badani te były realizowane w ramach 3 projektów badawczych.

Dysponując bardzo dobrze przygotowanym warsztatem analitycznym dr Szczerbowska-Boruchowska zainteresowała się dystrybucją pierwiastków w tkance nowotworowej. Badania te realizowane były w oparciu dwa granty w tym jeden międzynarodowy.. Rezultaty tych badań stanowią część pracy habilitacyjnej.

Potwierdzeniem dużej wiedzy i pozycji naukowej dr Szczerbowskiej-Boruchowskiej jest jej udział w konsorcjum utworzonego w ramach Diagnostic Application of Synchrotron Infrared Microspectroscopy (DASIM) finansowanym z 6 Programu Ramowego.

Dorobek dr Szczerbwskiej-Boruchowskiej poza pracami będącymi podstawą habilitacji obejmuje 2 publikacje przed doktoratem i 15 po doktoracie indeksowanych w Journal Citation Reports oraz 20 pozostałych publikacji, jest również współautorem 3 opracowań zbiorowych. Przedstawiła również wyniki swoich badań na 54 naukowych konferencjach krajowych i międzynarodowych.

.Łączny wskaźnik oddziaływania (IF) publikacji oryginalnych wynosi 50,75, indeks Hirscha 9, a liczba cytowań 167, a bez autocytowań 127 (Web of Science).

Na podkreślenie zasługuje udział habilitantki w projektach krajowych (3 projekty) i międzynarodowych (12projektów), a szczególnie kierowanie przez nią 2 projektami krajowymi i 12 międzynarodowymi.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Działalność dydaktyczna dr Magdaleny Szczerbowskiej-Boruchowskiej skoncentrowana jest na prowadzeniu wykładów (Mikroskopia w podczerwieni w medycynie i biologii oraz Fizyka ogólna dla Wydziału Górnictwa i Geoinżynierii AGH), a głównie na prowadzeniu zajęć laboratoryjnych i obliczeniowych (Ćwiczenia laboratoryjne z Fizyki, pracownia I; Ćwiczenia laboratoryjne z dozymetrii promieniowania niejonizującego; Ćwiczenia laboratoryjne z dozymetrii promieniowania γ . Specjalistyczne zajęcia laboratoryjne z mikrospektrometrii w podczerwieni i Ćwiczenia rachunkowe z fizyki, kurs podstawowy).

Działalność dydaktyczna związana z nauczaniem studentów to również opieka nad 17 studentami Wydziału Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH, przygotowującymi pracę inżynierską i magisterską.

Za opiekę nad pracami magisterskimi została dwukrotnie (2006 i 2011) uhonorowana dyplomem w konkursie Diamentowy AGH w kategorii prace aplikacyjne.

W działalności organizacyjnej została wymieniona tylko funkcja przewodniczącego / członka wydziałowej komisji rekrutacyjnej Wydziału Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH. Osobiście uważam, że w tej działalności powinno być wymienione również założenie laboratorium mikrospektrometrii w podczerwieni dla potrzeb badań naukowych i działalności. Jest to najważniejsze dokonanie organizacyjne habilitantki, w załączniku V jest to wymienione w działalności dydaktycznej (V_19 c).

Rozprawa habilitacyjna

Rozprawa habilitacyjna pt. „Rozwój metod jakościowego i ilościowego mikroobrazowania chemicznego tkanek z zastosowaniem promieniowania X i ich wykorzystanie dla potrzeb neuropatologii” jest opracowana w formie cyklu publikacji opatrzonego czternastostronicowym komentarzem. W skład rozprawy wchodzi osiem artykułów opublikowanych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym (z tak zwanej Listy Filadelfijskiej): 2 artykuły w *X-Ray Spectrometry* (IF 1,445) i po jednym w *Neuroscience* (IF 3,215), *Analytica Chimica Acta* (IF 4,555), *Journal of Biological Inorganic Chemistry* (IF 3,289), *Journal of Atomic Spectrometry* (IF 3,220), *Journal of Physics: Condensed Matter* (IF 2,546) i *Neurochemistry International* (IF 2,857). Dwa artykuły są jednoautorskie a pozostałe wieloautorskie, a istotny wkład dr Szczerbowskiej-Boruchowskiej w ich powstawanie potwierdzają oświadczenia współautorów.

Omówienie prac będących podstawą habilitacji Autorka umieściła w Autoreferacie, według mnie omówienie publikacji powinno stanowić oddzielny dokument od Autoreferatu.

Część wprowadzająca w sposób skrótowy przedstawia zagadnienia, którymi zajmowała się habilitanta i pomimo swojej skondensowanej formy zawiera wszystkie istotne informacje.

Cele badań realizowanych w ramach pracy habilitacyjnej zostały przedstawione w rozdziale *Wprowadzenie w Autoreferacie* (załącznik II).

Pierwszym celem badań było opracowanie szeregu metod z wykorzystaniem promieniowania X pozwalających na analizę jakościową, topograficzną, ilościową i sekwencyjną pierwiastków w tkankach centralnego układu nerwowego (mózgu). Drugim celem badań było opracowanie metody rentgenowskiej mikroanalizy fluorescencyjnej w celu wykorzystania w szeroko rozumianej diagnostyce medycznej.

Omówienie badań zostało podzielone na 4 części;

- Wpływ fizycznych właściwości próbki na efekty oddziaływania promieniowania X z materią – skutki dla ilościowych oznaczeń w technice XRF.

- Nowe materiały wzorcowe dedykowane do analizy ilościowej XRF tkanek miękkich metodą wzorca wewnętrznego.
- Przykłady zastosowań rentgenowskiej mikroanalizy fluorescencyjnej dla potrzeb neuropatologii.
- Metodologia badań form chemicznych S i Fe w tkankach z zastosowaniem spektroskopii absorpcji promieniowania X w pobliżu krawędzi absorpcji.

Omówienie wpływu właściwości próbki na efekty oddziaływania promieniowania X i związane z tym skutki dla oznaczania techniką XRF zostało oparte na publikacji oznaczonej w spisie piśmiennictwa H-6. W tej części badań habilitanta zajęła się badaniem wpływu grubości próbki oraz jej składu biologicznego na wyniki oznaczeń metodą XRF. W badaniach tych wykazała, że tkanki miękkie po pobraniu i poddaniu analizie mogą być traktowane jak średnio grube a tkanki poddane wcześniejszemu suszeniu jako próbki cienie. Zaproponowana w pracy procedura oznaczania pierwiastków w materiale biologicznym z wykorzystaniem techniki XRF umożliwia uzyskanie wiarygodnych wyników. Ze względu na przeprowadzenie badań z wykorzystaniem bardzo dużej ilości tkanek (istota szara i biała mózgu, serce, wątroba, nerki, płuca, macica, jajniki, jadra, prostata, pęcherz moczowy, tkanka łączna gruczołu piersiowego, mięśnie szkieletowe, skóra, kości, zęby) opracowana procedura może znaleźć bardzo szerokie zastosowanie w badaniach medycznych. Opracowana metoda została zwalidowana i zweryfikowana eksperymentalnie. Badania te dotyczyły nie tylko opracowania procedur analitycznych, ale została również zaproponowana metoda obliczeniowa umożliwiająca oznaczanie pierwiastków w próbach o pośredniej grubości a nawet grubych.

W większości metod analitycznych istnieje konieczność zastosowania wzorca. Dobór takiego wzorca lub próby wzorcowej w analizie ilościowej tkanek z zastosowaniem mikroanalizy fluorescencyjnej jest szczególnie istotne. Dostępne komercyjne materiały wzorcowe w większości nie spełniają wymagań tego typu analiz. Problem odpowiedniego przygotowania próby wzorcowej do mikroanalizy fluorescencyjnej został rozwiązany przez habilitantkę i przedstawiony w publikacji H-7.

Opracowane i zwalidowane metody analityczne, które niewątpliwie wnoszą nowe wartości naukowe do oznaczania, a szczególnie obrazowania pierwiastków w materiale biologicznym i są osobistym osiągnięciem naukowym dr Magdaleny

Szczerbowskiej-Boruchowskiej zostały z powodzeniem zastosowane w badaniach prowadzonych wspólnie z Katedrą Neurologii CMUJ. Prace oznaczone w spisie publikacji symbolami H-2; H-5; H-7 i H-8 są tego dowodem. Badania te są kontynuacją badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej i dotyczą analizy pierwiastków w tkance mózgu osób z stwardnieniem zanikowym bocznym i chorobą Parkinsona. W badaniach tych została wykorzystana synchrotronowa mikroskopia w podczerwieni i rentgenowska mikroanaliza fluorescencyjna z zastosowaniem promieniowania synchrotronowego. Przeprowadzone badania wniosły nowe informacje pozwalające uzupełnić naszą wiedzę o patogenezie choroby Parkinsona i stwardnieniu zanikowym bocznym. Wskazują one również na umiejętność habilitantki to pogłębiania wiedzy w wybranym przez nią kierunku.

Ostatnia część badań stanowiących podstawą pracy habilitacyjnej to badanie form chemicznych siarki i żelaza w tkankach z zastosowaniem absorpcji promieniowania w pobliżu krawędzi absorpcji (XANES) (H-4). Badania obrazowania stopnia utlenienia metodą XANES prowadzono z wykorzystaniem tkanki nowotworowej mózgu. W badaniach tych jako materiał referencyjny zastosowano organiczne i nieorganiczne połączenia siarki. W dalszych etapach tych badań (H-5) wykonano po raz pierwszy wykonano selektywne, dwuwymiarowe obrazowanie form chemicznych siarki w skrawkach tkanki nowotworowej. Projekt tego eksperymentu jak również zaproponowany algorytm do wyznaczania map różnicowych dystrybucji form chemicznych siarki jest autorskim osiągnięciem habilitantki.

Drugim pierwiastkiem obrazowanie i oznaczanie różnych form chemicznych w tkance nowotworowej mózgu przeprowadzała dr Szczerbowska-Boruchowska było żelazo (H-3). W badaniach tych zastosowała tą samą technikę analityczną (XAANES). W badaniach tych prześledzono zależność pomiędzy różnymi typami nowotworów mózgu a poszczególnymi formami chemicznymi żelaza. Bardzo dokładne przedstawienia opracowanej metody oznaczania form chemicznych żelaza pozwali bez trudu na jej wykorzystanie przez innych badaczy.

Wnioski końcowe

Oceniając bardzo wysoko dorobek naukowy jak i przedłożona pracę habilitacyjną stwierdzam, że zarówno działalność naukowa jak i rozprawa habilitacyjna zawierają wiele nowości naukowych i wnoszą istotny wkład w rozwój analizy metali w próbach biologicznych. Praca ma nie tylko dużą wartość naukową, ale i duże znaczenie aplikacyjne, co zostało wykazane w załączonych publikacjach. Przeprowadzone badania wniosły nowe informacje umożliwiające wyjaśnienie mechanizmów patogenezы niektórych jednostek chorobowych.

Osiągnięcia naukowe i dotychczasowy dorobek dr Magdaleny Szczerbowskiej-Boruchowskiej spełniają wymagania stawiane pracą habilitacyjną przez Ustawę z dnia 14 marca 2004 o stopniach naukowych i tytule naukowym z późniejszymi zmianami oraz Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 1 września 2011.

Na tej podstawie wnoszę wniosek o przyjęcie rozprawy habilitacyjnej i dopuszczenie dr Magdaleny Szczerbowskiej-Boruchowskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Kraków, 03.01.2013.

Prof. dr hab. Wojciech Piekoszewski