



Warszawa, 30 czerwca 2023

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pana mgr. Łukasza Ołdaka

pt.: Oznaczanie potencjalnie charakterystycznych białek prozapalnych i proangiogennych jako nowy obszar rozwoju matrycowych bioczuJNIKÓW SPRI

wykonanej pod opieką prof. dr hab. Ewy Gorodkiewicz
na Wydziale Chemii Uniwersytetu w Białymstoku

Pan **mgr Łukasz Ołdak** ukończył studia magisterskie na Kierunku Chemia, na Wydziale Chemii Uniwersytetu w Białymstoku w 2019 roku. W tym samym roku zaczął studia III-go stopnia w Szkole Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu w Białymstoku i równolegle przez dwa lata pracował jako nauczyciel chemii w Szkole Podstawowej nr 20 (również Białymstoku). Pan Łukasz Ołdak odbył cztery saże naukowe, w tym jeden zagraniczny, i koordynował realizację czterech projektów naukowych. Efektem jego badań jest przedłożona do recenzji rozprawa doktorska pt. „**Oznaczanie potencjalnie charakterystycznych białek prozapalnych i proangiogennych jako nowy obszar rozwoju matrycowych bioczuJNIKÓW SPRI**”, na którą składa się cykl sześciu spójnych tematyczne publikacji naukowych, jeden patent krajowy, jedno zgłoszenie patentowe oraz 50-cio stronicowy opis najważniejszych wyników zawartych w cyklu artykułów. We wszystkich publikacjach naukowych składających się na rozprawę doktorską **Doktorant jest pierwszym autorem!** Jego wiodący udział w ich przygotowaniu potwierdzają także stosowne oświadczenia pozostałych współautorów umieszczone przy każdej publikacji z cyklu tematycznego. Ponadto, w dorobku naukowym p. Ołdaka znajduje się jeszcze **czternaście artykułów naukowych** opublikowanych w większości, w czasopismach z listy filadelfijskiej, co wskazuje na **niezwykłą wręcz aktywność publikacyjną Doktoranta**. Artykuły te opublikowane są w renomowanych czasopismach, wśród których wyróżnić można czasopisma takie jak: *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *Protein and Peptide Letters*, *Biomolecules*, *Biosensors*. Pan Łukasz Ołdak prezentował także swoje wyniki badań na trzech konferencjach międzynarodowych i 13 krajowych, a jego prezentacje były

wielokrotnie nagradzane, bądź wyróżniane. Uczestniczył również w kilku szkoleniach i prowadził aktywną działalność promocyjną w otoczeniu naukowym macierzystego uniwersytetu.

W przypadku tak bogatego dorobku Doktoranta i takiej aktywności w środowisku naukowym moja recenzja powinna zakończyć się w tym miejscu akapitem podsumowującym wymieniającym stosowne numery ustaw i paragrafów oraz uzasadnionym wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana Łukasza Ołdaka. Niestety, wówczas Dziekan Wydziału Chemii Uniwersytetu w Białymstoku jako dysponent środków finansowych Wydziału, mógłby odnieść wrażenie, że środki przeznaczone na przygotowanie mojej recenzji zostały wydane nieadekwatnie do jej zawartości. Stąd postanowiłem jednak swoją recenzję przygotować w klasycznej formie, mimo że Doktorant będzie znał jej konkluzję od razu na wstępie jej czytania.

Zawarte w cyklu publikacji naukowych składających się na rozprawę doktorską Pana Ołdaka wyniki badań dotyczą konstrukcji biosensorów wykorzystujących zjawisko powierzchniowego rezonansu plazmonów w wersji obrazowej do oznaczania katepsyny S, receptora-2 czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego oraz jednoczesnego oznaczania czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego i czynnika-2 wzrostu fibroblastów. Kolejne wyniki prac p. Ołdaka dotyczą opracowania trzech testów analitycznych służących do diagnostyki glejaka mózgu. Podczas opracowywania testów analitycznych Doktorant postanowił wykorzystać potencjalne biomarkery glejaka mózgu – wybrane enzymy proteolityczne z grupy katepsyn, trzy białka błony podstawnej oraz trzy białka szlaku ubikwityna-proteasom. Wybrane białka odgrywają istotną rolę w rozwoju choroby nowotworowej u pacjentów, a więc wybór ich jako biomarkerów zaproponowany przez Doktoranta był w pełni uzasadniony. Badania nad opracowaniem biosensorów oraz wymienionych wyżej testów analitycznych poszerzone o walidację i analizę statystyczną uzyskanych wyników analiz rzeczywistych próbek biologicznych – etapy żmudne i pracochłonne razem wpisują się w niezwykle aktualny i potrzebny obszar prac nad opracowywaniem nowych, efektywnych i wiarygodnych metod analitycznych dla nowoczesnej diagnostyki laboratoryjnej.

Doktorant planując badania sformułował aż **jedenaste celów badawczych**, co jak na stosunkowo krótki okres przygotowania rozprawy doktorskiej oraz realizację programu kształcenia w ramach szkoły doktorskiej było bardzo ambitne. W polskojęzycznym opracowaniu, często nazywanym „przewodnikiem po cyklu publikacji”, w przemyślany sposób Autor prowadzi czytelnika przez kolejne etapy swoich badań, nie zapominając o podkreśleniu istotności podjęcia badań związanych z rozwojem diagnostyki chorób nowotworowych oraz krótkim wprowadzeniu teoretycznym w świat techniki powierzchniowego rezonansu plazmonów, którą stosował przez cały okres realizacji swojej pracy. Pan Łukasz Ołdak podkreśla zalety techniki SPR, wśród których wymienia m.in.: wysoką czułość i selektywność, możliwość dynamicznego śledzenia przebiegu reakcji z wykorzystaniem odpowiednio zaprojektowanego sensora oraz fakt że jest to technika bezznacznikowa o bardzo szerokich możliwościach analitycznych. Następnie przedstawia podział

i krótką charakterystykę najważniejszych typów immunosensorów, a także podkreśla rolę biomarkerów w nowoczesnej diagnostyce medycznej, a szczególnie w diagnostyce chorób nowotworowych, w tym również glejaka mózgu, którego typy i postaci dokładnie omawia. W dwóch zestawieniach tabelarycznych p. Ołdak przedstawił zarówno potencjalne markery glejaka mózgu oraz ogólnie chorób nowotworowych i na podstawie tych informacji Doktorant zaproponował opracowanie trzech biosensorów opartych o różne przetworniki SPRi i trzech testów analitycznych. Dalszą część syntetycznego opisu najważniejszych wyników swoich prac p. Ołdak poświęca przybliżeniu tematyki i zakresu badań przedstawionych w każdej publikacji będącej elementem cyklu artykułów przedłożonego do recenzji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora. Po każdym podrozdziale / części tego opisu Doktorant formułuje najważniejsze wnioski. Dodatkowo, co **uwzględniłem za niezwykle cenne na końcu tego opracowania Autor przedstawił dyskusję dotyczącą uzyskanych wyników** począwszy od analizy parametrów metrologicznych zaproponowanych przetworników SPRi z warstwą mono- i bimetaliczną, po zastosowanie więcej niż jednego przeciwciała w warstwie receptorowej biosensora lub inhibitorów jako alternatywy dla przeciwciał w konstruowanych biosensorach. Autor analizuje parametry statystyczne uzyskane przeprowadzeniu kolejnych etapów walidacyjnych, co uważam za bardzo istotne ponieważ w wielu pracach w obszarze chemii analitycznej oraz bioanalitiky etapy walidacji opracowanych metod są marginalizowane, gdyż wymagają one nie tylko wiedzy w obszarze statystyki (zwykle nie lubianej przez studentów chemii i biotechnologii), ale także dużego zaangażowania w pracę eksperymentalną polegającą na kolejnych powtórzeniach pomiarów i kolejnych etapów procedury analitycznej. Badając próbki rzeczywiste od pacjentów Doktorant przeprowadził też wnikliwą analizę statystyczną wpływu różnych czynników, zależnych i niezależnych od pacjenta, na stężenia potencjalnych biomarkerów chorób nowotworowych i zaobserwował różnice niestety dopiero w przypadku bardziej zaawansowanych postaci choroby. Mam nadzieję, że w dalszych badaniach, już Panu doktorowi Łukaszowi Ołdakowi, uda się jednak opracować narzędzie / test do diagnostyki wczesnych stadiów nowotworu, co byłoby ogromnym sukcesem.

Chciałbym zaznaczyć, że w przypadku recenzji rozprawy doktorskiej w postaci cyklu publikacji naukowych „czepialski” recenzent (ja za takiego się uważam) ma niestety znacznie utrudnione zadanie. **Recenzji**, zgodnie ze stosowną ustawą, **podlega bowiem jedynie dorobek naukowy Doktoranta**, a nie, opracowany przez Doktoranta na jego podstawie, „syntetyczny opis najważniejszych wyników”. A pamiętać należy, że **opublikowane dobre artykuły naukowe** są nie tylko czytane i poprawiane wielokrotnie przez wszystkich współautorów (przynajmniej taką nadzieję ma zawsze na pewno pierwszy autor publikacji), ale także krytycznie oceniane przez recenzentów niezależnych, wyznaczanych przez redaktora czasopisma – ekspertów w danej tematyce. Stąd trudno w opublikowanych artykułach doszukać się błędów merytorycznych, językowych, czy

graficznych. Moje pytania i uwagi będą miały raczej charakter próśb o wyjaśnienie lub przedyskutowanie rozwiązania lub procedury eksperymentalnej. A zatem:

1. Dlaczego precyzja opracowanych biosensorów lub testów analitycznych wyrażana jest raz za pomocą RSD a raz CV?
2. Czy sformułowanie „*technologia SPR*” jest poprawne? Wydaje mi się że mówimy raczej o technice analitycznej a nie technologii..., tym bardziej „*nie współpracują z nią immunoczuJNIKI*” - trudno mówić bowiem o współpracy sensora z czymkolwiek.....
3. Dlaczego w technice SPR wymagana jest polaryzacja światła typu p? Co by było gdybyśmy zastosowali inny typ polaryzacji?
4. Czy sformułowanie „*kolektywna oscylacja ładunku swobodnego*” nie jest kalką z języka angielskiego? - słowa „kolektywna” używałbym raczej w odniesieniu np. do decyzji jakiegoś gremium np. ekspertów, członków komisji (np. w sprawie wyróżnienia rozprawy p. Łukasza Ołdaka), a nie do określenia oscylacji ładunku.
5. Na str. 15 polskojęzycznego opisu pojawia się zdanie „*Ustalona długość fali jest niezwykle istotna ze względu na konieczność dopasowania stałej propagacji światła pod określonym kątem padania.*”, z którego nie wynika do czego powinna być dopasowana stała propagacji światła?

6. W ramach pod schematami konstrukcji biosensorów pojawiają się informacje dwojakiego typu:
„Wykorzystywano bioczuJNIK z przeciwciałem lub bioczuJNIK z inhibitorem. Obie konstrukcje nigdy nie stanowiły tej samej płytki bioczuJNIKA.”

„Obie konstrukcje za każdym razem wchodziły w skład jednego bioczuJNIKA.”


Poprosiłbym Doktoranta o wyjaśnienie i doprecyzowanie do czego odnosi się pojęcie „**ta sama płytka bioczuJNIKA**” i „**jeden biooczuJNIK**”, ponieważ na schematach widać dużą płytkę przetwornika SPR z wieloma miejscami w których immobilizowano receptory i na podstawie takich sformułowań nie bardzo wiadomo co stanowi jeden bioczuJNIK - czy całe podłoże SPR?, czy pojedynczy „punkt detekcyjny”?

Myślę, że Doktorant nie będzie miał najmniejszych problemów z odpowiedzią na zadane wyżej pytania. Byłoby też bardzo ciekawe gdyby szerzej omówił problem wczesnej diagnostyki nowotworów w oparciu o analizę biomarkerów lub związków typowanych jako potencjalne biomarkery nowotworów, ale to już może w trakcie otwartej dyskusji w czasie obrony pracy, a nie w czasie odpowiedzi na uwagi rezydentów.

Na koniec mojej recenzji pracy Doktoranta muszę przyznać, **że jestem pod ogromnym wrażeniem jej zakresu** – począwszy od konstrukcji bisensorów, przez opracowanie pełnych

testów analitycznych, ich walidację, zaawansowaną statystykę i co w chemii analitycznej i bioanalitycznej jest najważniejsze – **analizie biologicznych próbek rzeczywistych!** Każdy chemik analityk wie, że wszystkie opracowywane metody analityczne mogą świetnie „działać” na roztworach wzorcowych, próbkach syntetycznych i w modelowych warunkach laboratoryjnych, ale każdy chemik analityk na pewno kiedyś „zderzył się” z analizą próbki rzeczywistej dla której jego super-metoda zupełnie nie działała. Tego oczywiście w dalszej karierze Panu Łukaszowi Ołdakowi nie życzę!

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa Pana Łukasza Ołdaka, przedstawia wyniki badań opublikowane sześciu artykułach naukowych w czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania (IF). Stwierdzam także, że recenzowana rozprawa doktorska w postaci cyklu sześciu spójnych tematycznie publikacji naukowych odpowiada warunkom określonym, w art. 13 ustawy z dn. 14 marca 2003r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65/2003 poz. 595 z późniejszymi zmianami) i wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu w Białymstoku o dopuszczenie Pana mgr. Łukasza Ołdaka do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora. **Ze względu na jej wysoki poziom naukowy, wykorzystanie innowacyjnych rozwiązań w konstrukcji biosensorów i testów analitycznych oraz duży wkład w rozwój diagnostyki chorób nowotworowych występuję z wnioskiem formalnym o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. Łukasza Ołdaka.**



Michał Chudy