Gdańsk, 9 grudnia 2024

Dr hab. Jacek Piosik, prof. UG
Pracownia Biofizyki,
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed
Ul. Abrahama 58, 80-307 Gdańsk
Tel.: +48 58 523 6311
E-mail: jacek.piosik@ug.edu.pl

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Grzegorza Wołąkiewicza pt.: „Detekcja α-defensyn metodami wzmocnionej fluorescencji na powierzchni nanocząstek metalu szlachetnego w diagnostyce infekcji okołoprotezowych”

Oceniana praca została wykonana w Katedrze Fizyki i Biofizyki, Wydziału Nauki o Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Promotorem niniejszej pracy jest **dr hab. Mariusz Szabelski, prof. UWM**, natomiast **dr n. med. Marek Gojło** z Oddziału Klinicznego Chirurgii Urazowo-Ortopedycznej i Chirurgii Kręgosłupa w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym w Olsztynie pełni funkcję promotora pomocniczego.

W dzisiejszych czasach przeżywamy ogromny rozwój medycyny. Powstają nowe metody leczenia oraz diagnostyki chorób, które jeszcze nie tak dawno przyczyniały się do obniżenia jakości i skrócenia przewidywanego czasu życia jednostki. Błyskawiczny rozwój medycyny spowodował znaczne wydłużenie życia ludzi, co z kolei wymagało i nadal wymaga opracowania kolejnych metod leczenia i diagnostyki pacjentów, ze szczególnym uwzględnieniem osób starszych. Jednym z istotnych aspektów starzenia się społeczeństw na świecie jest coraz częstsze stosowanie protez stawów, głównie biodrowych i kolanowych, które z wiekiem ulegają zwyrodnieniu. Skomplikowane operacje ortopedyczne wykorzystywane do zastępowania zwyrodniałych stawów endoprotezami są jednak dużym obciążeniem dla zdrowia i komfortu życia pacjentów. Niestety, wraz z coraz częstszym wykonywaniem tych skomplikowanych zabiegów dochodzi również do istotnego wzrostu ilości powikłań. Jednym z poważniejszych powikłań endoprotezoplastyki są zakażenia okołoprotezowe. Wymagają one szybkiego rozpoznania i leczenia, ponieważ ich brak może narażać pacjenta na poważny uszczerbek na zdrowiu a nawet doprowadzić do jego śmierci. W przypadku wczesnej i szybkiej diagnozy zakażenia okołoprotezowego możliwe jest przeprowadzenie leczenia, zarówno chirurgicznego oraz antybiotykoterapii, które dają pacjentowi duże szanse na uratowanie endoprotezy i szybki powrót do zdrowia. Późna diagnostyka tego powikłania komplikuje i wydłuża czas leczenia nawet do kilku miesięcy, co wiąże się zazwyczaj z implementacją endoprotezy rewizyjnej oraz prowadzi do dużego

obciążenia dla zdrowia i komfortu życia pacjenta. Diagnostyka zapalenia okołoprotezowego jest jednak trudna i zazwyczaj wieloetapowa. Jednym z jej istotnych elementów jest ocena parametrów krwi, głównie sedymentacji erytrocytów (odczyn Biernackiego, OB) oraz stężenia białka C-reaktywnego w surowicy (CRP), ale również stężenia D-dimerów, fibrynogenu czy interleukiny 6 (IL-6). Jednak analiza tych parametrów krwi nie zawsze daje możliwość pewnej diagnostyki infekcji okołoprotezowej, ponieważ zazwyczaj są one symptomami innych stanów zapalnych, np. związanych z przeprowadzonym zabiegiem operacyjnym czy innymi ogólnymi infekcjami organizmu pacjenta. Ocena biomarkerów z płynu stawowego (CRP, esteraza leukocytarna, kalprotektyna) jest kolejnym elementem diagnostyki okołoprotezowych stanów zapalnych, dającym bardziej jednoznaczne wyniki niż ocena parametrów krwi. Nie mniej jednak nadal diagnostyka zapalenia okołoprotezowego pozostaje wieloetapowa i trudna do interpretacji. Dlatego też w ostatnich latach z wielką uwagą przyglądano się możliwościom detekcji alfa-defensyn z płynu stawowego, białkom należącym do grupy peptydów przeciwdrobnoustrojowych. Niestety, obecnie dostępne są jedynie 2 komercyjne testy wykrycia alfa-defensyn w płynie stawowym. Pierwszy z nich, ilościowy, oparty jest na teście ELISA, jest to test czuły i swoisty, ale jego przeprowadzenie możliwe jest tylko w 2 akredytowanych laboratoriach w Europie (Niemcy, Wielka Brytania) wciągu 24-48 godzin. Drugi, to paskowy test immunochromatograficzny, który jest mniej czuły niż poprzedni test lecz w ciągu 10-20 minut daje jakościowy, nie zawsze jednoznaczny, wynik binarny. Niestety, obydwa testy są dodatkowo bardzo kosztowne. Dlatego też doktorant postawił sobie za główny cel pracy opracowanie metody detekcji poziomu alfa-defensyn z płynu stawowego wykorzystując metody wzmocnionej fluorescencji na powierzchni nanosrebra. W założeniach doktoranta metoda ta mogłaby się stać łatwym do przeprowadzenia, a dodatkowo szybkim i tanim testem pomocnym w diagnostyce zapalenia okołoprotezowego.

Prezentowana rozprawa doktorska ma typowy układ dla tego rodzaju publikacji. Składa się z następujących głównych działów: „Wstęp", „Cel, zakres i znaczenie badań", „Materiały i metody badawcze", „Wyniki badań i dyskusja", „Wnioski", „Bibliografia" i „Spis rysunków i tabel". Całość poprzedzona jest „Alfabetycznym spisem skrótów" – niezwykle pomocnym w trakcie czytania pracy, oraz „Streszczeniem" w języku polskim i angielskim („Summary"). Praca zajmuje 196 stron formatu A4.

Obszerny **Wstęp** zajmuje 63 strony i podzielony jest na 8 szczegółowych podrozdziałów. Biorąc pod uwagę poszczególne podrozdziały odnosi się wrażenie, że mamy tutaj do czynienia z podziałem funkcjonalnym tego działu. Pierwsza część jest bardzo fizyczno-biofizyczna, kolejna medyczna i diagnostyczna. Część fizyczno-biofizyczna zaczyna się od bardzo szczegółowego opisu zjawiska wzmocnionej fluorescencji na powierzchni nanocząstek metalu. Następnie Doktorant szczegółowo

opisuje nanocząstki srebra, począwszy od sposobów ich syntezy, poprzez ich aktywność biologiczną a kończąc na zastosowaniu tych nanocząstek w biosensorach. I właśnie ten szczegółowy opis biosensorów i zjawisk fizycznych odpowiedzialnych za ich skuteczne działanie, ze szczególnym uwzględnieniem fluorescencji wykorzystującej zjawisko całkowitego wewnętrznego odbicia, kończy tę pierwszą część funkcjonalną część **Wstępu**. Następnie szczegółowo opisane są infekcje okołoprotezowe, częstość ich występowania oraz sposoby leczenia. Całość **Wstępu** zakończona jest bardzo szczegółowym opisem różnych biomarkerów, począwszy od tych podstawowych dla diagnostyki stanów zapalnych z krwi, poprzez biomarkery z płynu stawowego a skończywszy na alfa-defensynach, które są głównym bohaterem niniejszej pracy. W tej części opisane są bardzo dokładnie kryteria diagnozy i oceny ryzyka wystąpienia infekcji okołoprotezowych. Doktorant pieczołowicie opisuje również aktualnie stosowane metody wykorzystywane w badaniach alfa-defensyn ze szczególnym uwzględnieniem opisu dostępnych komercyjnie testów. Całość tego rozdziału stanowi spójną, ciekawą i bardzo dobrze opisującą aktualny stan wiedzy część pracy na temat zarówno podstawowych zjawisk fizycznych, procesów biofizycznych ale również aspektów medycznych, związanych z diagnostyką i leczeniem infekcji okołoprotezowych. Doktorant świetnie posługuje się językiem naukowym wykorzystywanym w naukach biofizycznych i medycznych, przy czym w sposób przystępny i jasny nakreśla aktualną problematykę badawczą i podstawy do rozwiązania niektórych z nich w niniejszej rozprawie doktorskiej.

W dziale **Cel, zakres i znaczenie badań** autor stawia dwie hipotezy badawcze, z której jedna zakłada że wykorzystanie w przygotowaniu biosensora wykrywającego alfa-defensyny dedykowane przeciwciała umożliwią ich specyficzną detekcję. Druga hipoteza zakłada, że wykorzystanie zjawiska wzmocnionej fluorescencji na powierzchni nanosrebra umożliwi wykrywanie nawet małych stężeń alfa-defensyn. Następnie przedstawiony jest szczegółowy plan badań a całość kończy uzasadnienie podjęcia tych studiów. Uważam, że przedstawione hipotezy badawcze, szczegółowy plan badań i ich uzasadnienie są logiczne i bardzo precyzyjnie nakreślają zakres niniejszego projektu doktorskiego.

W sekcji **Materiały i metody badawcze** doktorant szczegółowo opisuje metodykę, aparaturę i wszystkie materiały użyte do wytworzenia i walidacji biosensora oraz układu pomiarowego. Niezwykle cenna w zrozumieniu przebiegu procesu wytworzenia biosensora i złożenia odpowiedniego systemu pomiarowego jest dokumentacja fotograficzna którą często posiłkuje się autor pracy. Drobnym mankamentem dla czytelnika może być brak szczegółowego opisu poszczególnych elementów aparatury bezpośrednio pod Rysunkiem 28, choć należy podkreślić, że szczegółowy opis elementów znajduje się w głównym tekście tego działu. Natomiast kompletnie nieczytelne są wykresy przedstawione na Rysunku 31. W oryginalnej pracy nawet lupa nie pozwala zapoznać się z

przedstawioną na wykresie legendą czy opisem osi. Inne kuriozum stanowi Tabela 2, która zawiera zeskanowane dwie tabele z materiałów źródłowych producenta fluroforów. Piszący te słowa jest zwolennikiem opracowania własnej tabeli przez autora na podstawie źródła pochodzącego, w tym wypadku, od producenta odczynników. Nie mniej jednak, są to drobne uwagi nie wpływające w istotny sposób na logiczne i jasne przedstawienie treści tego rozdziału rozprawy doktorskiej.

Wyniki badań i dyskusja to obszerny, liczący 65 stron, kolejny rozdział ocenianej pracy doktorskiej. Początkowo doktorant skupia się na badaniach stabilności warstw nanosrebra w zależności od procesu ich przygotowania oraz warunków ich późniejszego przechowywania. Okazało się, że nanowarstwy srebra na szklanych płytkach są stabilne zarówno te pokryte wcześniej polilizyną jak i bez te, na których syntetyzowano nanowarstwy bez polilizyny. Co prawda występują drobne różnice spektralne ale są one w granicach błędów pomiarowych. Podobnie fakt przechowywania płytek w wodzie i bez niej nie wpływały w sposób znaczący stabilność warstw nanosrebra. Przygotowane w ten sposób płytki stały się podstawą opracowywanego biosensora. Następnym etapem prezentowanej pracy było sprawdzenie wpływu warstw nanosrebra na płytkach na stabilność fluoroforu. Testowanym fluoroforem była hiperycyna, która absorbuje i emituje światło w paśmie widzialnym oraz jako fluorofor podlegający fotodegradacji stanowił uzasadniony wybór do badania właściwości płytek. Okazało się, że płytki pokryte nanosrebrem kilkukrotnie wzmacniają intensywność fluorescencji hiperycyny. Co więcej, zastosowanie warstw nanosrebra wpływa na mniejszą fotodegradację fluoroforu oraz korzystnie na jego efektywność fluorescencji w czasie w porównaniu do płytek nie zawierających nanosrebra. Następnie doktorant bardzo szczegółowo bada właściwości spektralne wybranych znaczników fluorescencyjnych związanych z badanymi białkami. Na podstawie analizy widm absorpcji, fluorescencji oraz czasów życia fluorescencji możliwe było ustalenie stopnia związania fluoroforów z białkami. Charakterystyki widm par przeciwciał znakowanych odpowiednimi fluoforami Dylight: IgG488 – IgG594 oraz IgG594 – IgG650, analizowanymi w roztworach wodnych, wykazały możliwy transfer energii, co korzystnie rokowało na powodzenie opracowania biosensora z wykorzystaniem tych par znakowanych przeciwciał. Zupełnie inaczej wyglądały analizy widm dla pary znakowane przeciwciało – znakowana alfa-defensyna, czyli IgG488 – AD594. W tym wypadku nie został zaobserwowany dostateczny transfer energii, co wykluczało tę parę donor – akceptor jako użyteczną dla opracowywanego testu. Z kolei dla konfiguracji IgG594-AD-IgG650 zaobserwowano transfer energii pozwalających zarejestrować fluorescencję akceptora IgG650. Stąd też doktorant wybrał, i słusznie, znaczniki Dylight 594 i Dylight 650 do dalszej części badań. Należy tutaj podkreślić, że ten cykl badań białek związanych z wybranymi znacznikami był niezwykle istotny dla zrozumienia fizycznych aspektów transferu energii (FRET). Doktorant tym samym wykazał ogromną cierpliwość i logikę cyklu badań przeprowadzając tak szczegółową analizę spektralną w roztworach wodnych. Było to podstawą

dalszych analiz już z wykorzystaniem szklanych płytek również tych z naniesionymi warstwami nanosrebra. Zastosowanie nanosrebra na biosensorach charakteryzowało się znacznym wzrostem sygnału fluorescencji akceptora (ok. 11x) w stosunku do badań na szkle, co wskazywało na wysoki potencjał użytkowy opracowanego biosensora. Muszę tutaj podkreślić swoisty elegancki styl prowadzenia badań: doktorant w bardzo logiczny sposób przeprowadził cykl szczegółowych eksperymentów, dobierając optymalne stężenia przeciwciał oraz dostosowując odpowiednie filtry do układu optycznego opracowywanego testu wykrywania alfa-defensyn AD-MEF. Ukoronowaniem tej części badań było przeprowadzenie cyklu eksperymentów na opracowanym biosensorze w szerokim zakresie stężeń alfa-defensyny w roztworze wodnym. Analiza widm fluorescencji akceptora IgG650 była jednak utrudniona ze względu na częściowe nakładanie się z widmem emisji donora IgG594. Jednak zastosowanie do badań obliczonych pól powierzchni pod krzywą (AUC) w pasmie wokół maximum emisji akceptora dla różnych stężeń alfa-defensyny oraz uwzględnienie kontroli negatywnej niezawierającej alfa-defensyny pozwoliło na skuteczne wykrycie stężeń poziomu alfa-defensyny porównywalnego z poziomem odcięcia (5,2 µg/mL) zoptymalizowanego dla testów komercyjnych. Jednocześnie analiza dostępnych danych i dyskusja tych danych przeprowadzona przez doktoranta wykazała skąpy poziom aktualnej wiedzy na świecie na temat stężeń alfa-defensyny u pacjentów badanych pod kątem zapalenia okołoprotezowego. Stąd też wydaje się być słusznym przyjęcie przez doktoranta poziomu odcięcia przyjętego dla dostępnych testów komercyjnych.

Ostatnią, a jednocześnie najciekawszą, częścią prezentowanych w pracy wyników były te uzyskane na podstawie analizy poziomu alfa-defensyn w płynie stawowym pobranym od 14 pacjentów. Pierwszym etapem tych badań było ustalenie optymalnego rozcieńczenia próbki ze względu na właściwości płynu stawowego. Okazało się, że optymalnym rozcieńczeniem będzie to w stosunku 1:2 w buforze fosforanowym. Co ciekawe, wyższe rozcieńczenia płynu stawowego również dawały detekcję alfa-defensyn, jednak analiza dokonana przez autora wykluczyła ich użycie w teście ze względu na ryzyko małej powtarzalności pomiarów. Po ustaleniu optymalnych rozcieńczeń próbek od pacjentów doktorant wykonał pomiary wodnych roztworów alfa-defensyn o ustalonych stężeniach w celu uzyskania krzywej wzorcowej. Na tym etapie pracy doktorant przystąpił do wyznaczania stężenia alfa-defensyn w płynie stawowym 13 pacjentów, jeden został wykluczony ze względu na zawartość krwi w płynie. Na podstawie analizy widm fluorescencji uzyskanych w teście AD-MEF doktorant ustalił średnie stężenia alfa-defensyn w płynie stawowym badanych pacjentów. Po wcześniejszym przyjęciu optymalnego dla testów komercyjnych poziomu odcięcia (5,2 µg/mL) zdecydował, że pacjenci #11 i #14 uzyskali wynik negatywny. U pozostałych 11 pacjentów nowoopracowany test AD-MEF potwierdził wyższy od przyjętego za próg decyzyjny poziom alfa-defensyn, więc potwierdzono w ten sposób u nich infekcję okołoprotezową. Następnie doktorant dokonał podobnych badań z użyciem komercyjnego testu diagnostycznego na próbkach pochodzących od 9 pacjentów. Porównanie wyników testu

komercyjnego oraz AD-MEF wykazało ich dużą zbieżność. Jedynie w przypadku pacjenta #10 wystąpiła różnica, test AD-MEF dał wynik pozytywny, natomiast test komercyjny negatywny. Następnie porównano wyniki obydwu testów na obecność alfa-defensyn w płynie stawowym z wynikami analiz lekarskich. W tym wypadku potwierdzono, że nowoopracowany test AD-MEF ma dużą wartość predykcyjną diagnozy zapalenia okołoprotezowego. Jedynie w jednym przypadku (pacjentka #5) wynik był fałszywie dodatni i jeszcze innym (pacjent #14) nierozstrzygnięty. Należy jednak podkreślić, że pacjentka #5 w trakcie badania przechodziła antybiotykoterapię ze względu na infekcję układu moczowego. Prowadzone leczenie z dużą dozą prawdopodobieństwa mogło maskować zakażenie okołoprotezowe. Reasumując, wyniki tej części rozdziału przedstawione są rzetelnie i nie budzą wątpliwości. Należy podkreślić, że doktorant porównał je nie tylko z wynikami testu komercyjnego ale również zestawił z diagnozami lekarzy, pod których opieką znajdowali się chorzy. Moim zdaniem zasługuje to na szczególne wyróżnienie prowadzonych badań, choć nie ukrywam, że ich większy zakres (większa liczba diagnozowanych pacjentów) dałby jeszcze lepszy materiał porównawczy niezbędny do dalszej walidacji opracowanego testu w przypadku dalszych prac nad jego wdrożeniem i/lub komercjalizacją.

Podsumowaniem prezentowanych wyników jest rozdział **Wnioski**. Przedstawione tutaj zwięzłe podsumowanie pracy wskazuje, że doktorant zrealizował swoje założenia i sprawdził postawione hipotezy badawcze. Uważam że przedstawione wnioski z wyników niniejszej pracy są jak najbardziej uzasadnione i świadczą o zrealizowaniu wyznaczonych wcześniej celów pracy.
Prezentowana praca kończy się liczącą nieco ponad 200 odnośników **Bibliografią** oraz **Spisem rysunków, wykresów i tabel**. Odnośniki literaturowe dobrane są poprawnie, nieco chaosu wprowadza podział rycin zawartych w tej pracy, ale o tym szczegółowo będzie poniżej.

Całość pracy oceniam bardzo wysoko. Świetnie napisany **Wstęp** wprowadza czytelnika w szczegóły dotyczące obszaru badań. Nieco w opozycji do niego jest rozdział **Wyniki i dyskusja**, który sprawia wrażenie chwilami pisanego w nieco chaotycznym stylu, jakby w wielkim pośpiechu. Nie mniej jednak przedstawia logiczny ciąg badań, wskazując na umiejętne wykorzystywanie przez doktoranta różnych technik i analiz, które pozwoliły finalnie na opracowanie biosensora. Przedstawione eksperymenty przeprowadzone były w logiczny i uporządkowany sposób. Na każdym kroku sprawdzane były poszczególne etapy konstrukcji biosensora. Uzyskiwane wyniki cząstkowe były krytycznie dyskutowane i zestawiane z obecnym stanem wiedzy. Szczególnie wysoko oceniam wyniki badań płynu stawowego pacjentów z podejrzeniem zapalenia okołoprotezowego co jednoznacznie wskazuje na próbę wykorzystania nowoopracowanego testu w praktyce diagnostycznej. Należy podkreślić, że badania te były całkowicie niezależne od podjętego przez lekarzy schematu leczenia poszczególnych pacjentów.

Praca napisana jest dojrzałym językiem naukowym. Nieco chaosu jest w opisie rycin, wykresów i tabel. Nie do końca jest dla mnie zrozumiały taki podział. Nie mniej jednak, poza pewnymi niedogodnościami w zrozumieniu sposobu przedstawiania w ten sposób informacji, wpływa to jedynie na estetyczny odbiór pracy a nie na jej wartość merytoryczną. Przeprowadzona dyskusja tych wyników świadczy o dojrzałości naukowej kandydata do uzyskania stopnia doktora. Trudno mi natomiast ocenić, stopień zaawansowania wdrożenia opracowanego testu AD-MEF. Mam też kilka pytań do doktoranta, które przedstawiam poniżej i proszę o ustosunkowanie się do nich podczas obrony pracy doktorskiej.

Polemiki, uwagi merytoryczne i techniczne:

1. Chciałbym uzyskać informację od autora czy po zakończeniu badań do opracowania niniejszej pracy doktorskiej nadal wykorzystywano opracowany test? Czy Państwo, myślę i autorze i promotorach, macie jakieś plany, pomysły na próbę jego faktycznego wdrożenia i/lub komercjalizacji jako istotnego narzędzia dla wczesnej i szybkiej diagnozy okołoprotezowych stanów zapalnych?
2. W pracy przedstawiono wyniki płynu stawowego 14 pacjentów z dwóch olsztyńskich szpitali. Jaka jest skala występowania tego problemu w województwie warmińsko-mazurskim i całym kraju?
3. Czy wiadomo coś Panu na temat losów pacjentki #5? Czy ostatecznie zdiagnozowano u niej infekcję okołoprotezową?
4. Na Wykresie 6 przedstawione są zaniki czasów życia fluorescencji hiperycyny. Tłumaczy Pan, że są wynikiem jakichś zmian badanego związku w stanie wzbudzonym. Czy ma Pan pomysł lub hipotezę tłumaczącą te zmiany?
5. Na stronie 152 dyskutuje Pan zależność między wyższymi stężeniami alfa-defensyn a wielkością odchyleń standardowych pomiarów, których wartości rosną wraz ze wzrostem stężenia. W jaki sposób może Pan wytłumaczyć tę zależność?
6. Na Wykresie 21 przedstawione są wartości AUC widm fluorescencji w teście AD-MEF dla próbek nierozcieńczonych i rozcieńczonych 1:1. Na stronie 145 w opisie Wykresu 21 pisze Pan: „Dla każdej zbadanej próbki sygnał po rozcieńczeniu w buforze fosforanowym (1:1), był wyższy niż dla płynu pobranego bezpośrednio od pacjenta.” Pozwolę się nie zgodzić, gdyż dla próbki #6 jest nieco niższy.
7. Drobne uwagi techniczne:

a. Tabela 2 (s.84) zawiera zeskanowane 2 tabele źródłowe. Wydaje się, że o wiele korzystniej wyglądałaby jedna tabela opracowana na podstawie źródeł. Skany takich tabel raczej uznane powinny być za rycinę lub rysunek.

b. Rysunek 28 – aż prosi się o opis w legendzie.

c. Rysunek 31 – przedstawione wartości w legendach wykresu i opisie osi niemal nieczytelne. Jedynie w dużym powiększeniu.

d. Tabela 3 i 4 zawierają po 4 wykresy widm. Moim zdaniem lepiej byłoby je uznać za wykresy z zaznaczonymi odpowiednimi panelami.

e. Podobnie jak wyżej Tabela 10 i 11. Dodatkowo wstawiona w prawym dolnym panelu legenda jest kompletnie nie wnosi istotnych informacji dotyczących wykresów.

f. Rysunek 37 w sposób nagły i niezrozumiały dla mnie wykresy przemieniły się w rysunek. Dlaczego?

g. Literówki – znaczna ilość ale przy tak szerokim opracowaniu trudno ich uniknąć.

Przedstawione powyżej uwagi nie obniżają wysokiego poziomu naukowego i potencjalnie aplikacyjnego ocenianej rozprawy.

Reasumując, recenzowana rozprawa doktorska stoi na bardzo wysokim poziomie naukowym. Zapewne za sprawą doświadczonych promotorów, którzy są ekspertami w swoich dziedzinach, łączy doskonale wybrane obszary szeroko rozumianej biofizyki oraz medycyny. Niewątpliwie posiada również duży potencjał aplikacyjny, aczkolwiek nie jest znany recenzentowi status planowanego wdrożenia czy też ewentualnej próby komercjalizacji nowoopracowanego testu wykrywania zakażeń okołoprotezowych. Nie mniej jednak stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska mgr Grzegorza Wołąkiewicza **spełnia wszystkie wymogi, zarówno art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz.U.2024.1571 ze zm.), jak również wymogi zwyczajowe stawiane tego rodzaju opracowaniom**. Biorąc pod uwagę doskonały poziom naukowy pracy oraz jej duży potencjał aplikacyjny wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie **o dopuszczenie Pana mgr Grzegorza Wołąkiewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.** Na podstawie analizy wyników niniejszej pracy zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie **o stosowne wyróżnienie przedmiotowej rozprawy doktorskiej.**

Signed by /
Podpisano przez:

Jacek Gabriel Piosik
Uniwersytet Gdański

Date / Data: 2024-12-09 10:09