

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Marii Baczewskiej
w związku z postępowaniem w sprawie nadania w/w stopnia doktora
 nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria
biomedyczna.

Niniejsza recenzja została opracowana na podstawie pisma Przewodniczącego Rady
Naukowej Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna prof. dr hab. inż. Tomasza Markiewicza
RND.IB.524.1.2923 z dnia 23.06.2023 r.

1. Znaczenie podjętej tematyki

Mikroskopowe techniki obrazowania są znane od wielu lat. W medycynie i biologii służą do badań różnego typu preparatów. Dla większości z nich istotnym elementem jest przeprowadzenie podstawowych pomiarów morfometrycznych dotyczących np. liczebności komórek, ich ułożenia czy cech opisujących ich kształt. Parametry te przez długi okres czasu były mierzone i weryfikowane w sposób ręczny. W każdym przypadku na wynik pomiaru wpływały cechy osobnicze operatora. Metody automatyczne, w szczególności segmentacja jako metoda analizy i przetwarzania obrazów, zostały rozpowszechnione znacznie później. Metody te pozwoliły na powtarzalny i w pełni automatyczny pomiar podstawowych cech obiektów widocznych pod mikroskopem. Do tego zakresu pomiarowego należy też pomiar specyficzności chemicznej materiału biologicznego. Istotna jest tutaj możliwość uzupełnienia

informacji obrazowych innymi metodami jak np. mikrospektroskopii Ramana czy mikroskopii fluorescencyjnej. Ten zakres problematyki został przedstawiony w niniejszej rozprawie doktorskiej.

2. Struktura rozprawy

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Marii Baczewskiej pt. "Holograficzne ilościowe obrazowanie fazowe ze wspomaganie multimodalnym w zastosowaniach biomedycznych na poziomie komórkowym" obejmuje 148 stron podzielonych na 3 rozdziały oraz glosariusz, bibliografię oraz spis rysunków i tabel. Praca została napisana w języku polskim, pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. inż. Małgorzaty Kujawińskiej oraz promotora pomocniczego dr inż. Wojciecha Krauze. Struktura rozprawy jest prawidłowa.

Pierwszy rozdział dotyczy opisu działalności naukowej Doktorantki przeprowadzonej w trakcie realizacji rozprawy doktorskiej. W tym rozdziale podano także motywację pracy oraz wstęp teoretyczny dotyczący ilościowej mikroskopii fazowej w zastosowaniach biologicznych. Odniesiono się w tym zakresie do cyfrowej mikroskopii holograficznej a także do tomografii holograficznej.

Rozdział drugi to przewodnik po publikacjach. W rozdziale tym Autorka wymienia cykl spójnych tematycznie publikacji stanowiących przedmiot rozprawy oraz wymienia multimodalne protokoły pomiarowe w zastosowaniach biomedycznych do obrazowania komórkowego. W rozdziale tym znajduje się też odniesienie do wkładu Autorki w poszczególne publikacje oraz opis kierunku dalszych prac.

Rozdział trzeci to przedruki 10 publikacji stanowiących przedmiot rozprawy.

Bibliografia zawiera 77 pozycji oraz publikacje stanowiące przedmiot rozprawy, są to pozycje od K1 do K3 oraz od P1 do P7. Przedstawiony spis tabel obejmuje 4 pozycje, natomiast spis rysunków obejmuje 17 pozycji. Streszczenie w języku polskim i angielskim przedstawiono na początku pracy.

Podsumowując, struktura rozprawy jest prawidłowa.

3. Teza pracy

Założenia i teza pracy została przedstawiona w podrozdziale 1.2 na str. 10. Teza pracy brzmi: "Właściwe opracowanie i implementacja metodyk prowadzenia badań biomedycznych z wykorzystaniem cyfrowej mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej umożliwiają pozyskanie wiarygodnych danych pomiarowych rozszerzających wiedzę o strukturach biologicznych na poziomie komórkowym". Teza ta odnosi się do opracowania metodyk prowadzenia badań biomedycznych których skutkiem jest pozyskanie wiarygodnych danych pomiarowych. Co więcej te pozyskane dane pomiarowe mają rozszerzać wiedzę o strukturach mikrobiologicznych. Nie jest do końca wiadome co oznacza „właściwe”. Można tutaj przyjąć, że każde „właściwe opracowanie” prowadzi do wskazanego efektu. Być może lepiej byłoby zamienić słowo „właściwe” na np. „dedykowane” czy „profilowane metody prowadzenia ...”. Dodatkowo w rozprawie nie jest w pełni wyjaśnione co Doktorantka rozumie przez „wiarygodne dane”. Być może sformułowanie odnosi się do „niewiarygodnych danych” – ale dla takich nie poświęcamy zbyt wiele uwagi w naukach inżyniersko -technicznych.

Dalej Doktorantka opisuje działania które przeprowadziła by udowodnić powyższą tezę. Wymienia tutaj opracowanie i wdrożenie do badań biomedycznych metod pomiarowych na poziomie komórkowym, co jest w pełni uzasadnione i racjonalne. Wymienione są też w tym rozdziale zadania badawcze dotyczące: zaproponowania i zaimplementowania metod wykorzystujących pomiary w dużym polu widzenia, analizy wpływu procesu utrwalania komórek na wykonywane pomiary, wprowadzenia multimodalnego wsparcia pomiarowego dla wybranych technik czy prezentacji przyjętych metodyk pomiarowych na podstawie wymienionych badań komórkowych.

W tym podrozdziale (1.2, str. 9 i 10) nie zawarto natomiast celu pracy, który Autorka obiecuje w jego tytule („Cel i motywacja pracy”), pojawia się odniesienie do niego dopiero w podrozdziale 2.4 Posumowanie. Szkoda, ponieważ on pozwoliłyby na zrozumienie istoty niniejszej rozprawy i tym samym potwierdziłyby celowość w doborze niektórych metod i technik badawczych.

4. Metodyka badań

Badania przeprowadzono na wielorakich obrazach komórek obrazowanych wielomodalnie. Autorka w sposób prawidłowy zrealizowała i przedstawiła protokoły pomiarowe dla technik

QPI dotyczące wpływu terapii LLLT oraz ziół medycyny chińskiej na komórki neuroblastomy. Dodatkowo w tym zakresie przeanalizowano wpływ leku bortezomib na komórki szpiczaka mnogiego. W zakresie biologicznym, weryfikacji przydatności stworzonych przez Doktorantkę protokołów pomiarowych przeprowadzono badania dotyczące wpływu utrwalania komórek paraformaldehydem na otrzymanywane wyniki. Otrzymane rezultaty tej analizy i pozostałych omawianych Autorka przedstawiła w siedmiu publikacjach oraz trzech artykułach konferencyjnych stanowiących podstawę niniejszej rozprawy. Artykuły te wymienia w rozprawie Doktorantka, ja pozwolę sobie tylko na wyszczególnienie pięciu z nich, które moim zdaniem są najbardziej istotne:

- [1] Influence of Yokukansan on the refractive index of neuroblastoma cells. Baczewska M, Królikowska M, Mazur M, Nowak N, Szymański J, Krauze W, Cheng CJ, Kujawińska M. *Biomed Opt Express*. 2023 Apr 10;14(5):1959-1973. doi: 10.1364/BOE.481169. eCollection 2023 May 1 [P7].
- [2] Numerical refractive index correction for the stitching procedure in tomographic quantitative phase imaging. Stępień P, Ziemczonok M, Kujawińska M, Baczewska M, Valenti L, Cherubini A, Casirati E, Krauze W. *Biomed Opt Express*. 2022 Oct 11;13(11):5709-5720. doi: 10.1364/BOE.466403. eCollection 2022 Nov 1 [P4].
- [3] Method to analyze effects of low-level laser therapy on biological cells with a digital holographic microscope. Baczewska M, Stępień P, Mazur M, Krauze W, Nowak N, Szymański J, Kujawińska M. *Appl Opt*. 2022 Feb 10;61(5):B297-B306. doi: 10.1364/AO.445337 [P5].
- [4] Holographic tomography: techniques and biomedical applications. Balasubramani V, Kuś A, Tu HY, Cheng CJ, Baczewska M, Krauze W, Kujawińska M. *Appl Opt*. 2021 Apr 1;60(10):B65-B80. doi: 10.1364/AO.416902 [P3].
- [5] Refractive Index Changes of Cells and Cellular Compartments Upon Paraformaldehyde Fixation Acquired by Tomographic Phase Microscopy. Baczewska M, Eder K, Ketelhut S, Kemper B, Kujawińska M. *Cytometry A*. 2021 Apr;99(4):388-398. doi: 10.1002/cyto.a.24229. Epub 2020 Oct 19 [P1].

Przedstawione artykuły w cyklu mają impact factor dochodzący do 4,7 a udział Doktorantki jest różny i szczegółowo opisany w rozprawie - waha się on od 8% do 85%. W zależności od procentowego udziału różny jest też zakres zrealizowanych zadań, w ramach każdego z przedstawionych i wchodzących w skład rozprawy artykułów. Zadania te dotyczą zarówno zebrania i analizy danych jak też przygotowania i opracowania tekstu artykułu. W tym zakresie nie mam wątpliwości, że Doktorantki przeszła i zapoznała się z każdym etapem przygotowania artykułu, począwszy od opracowania wstępnych założeń a skończywszy na odpowiedziach na wątpliwości recenzentów – chociaż w tym zakresie Doktorantka nie przedstawiła oświadczeń Współautorów. Nie mam też wątpliwości w zakresie spójności tematyki artykułów z tematyką rozprawy.

Należy szczególnie podkreślić, że wybrane wyniki Doktorantka opracowała w ramach prac przeprowadzonych w licznych projektach. Brała udział między innymi w projekcie Fundacji Nauki Polskiej w programie TEAM-TECH, w ramach polski-tajwańskiego projektu finansowanego przez MNiSW, projekcie organizowanego na Politechnice Warszawskiej w ramach programu IDUB PoB, czy projekcie europejskim (H2020). W konsekwencji udziału i prac w licznych projektach Doktorantka współpracowała z wieloma ośrodkami naukowymi, wymienionymi szczegółowo w rozprawie doktorskiej. Należą do nich przykładowo partnerzy międzynarodowi jak np. Muenster University projektu Reveal.

Pomimo tego ponadprzeciętnego wkładu w inżynierię biomedyczną, od strony wykorzystania współczesnych wielomodalnych technik obrazowania komórkowego, Autorka nie ustrzegła się od drobnych usterek merytorycznych i błędów redakcyjnych. Chciałbym, żeby Doktorantka odniosła się do tych pierwszych podczas publicznej obrony.

Usterki/pytania merytoryczne do dyskusji:

1. Głównym nurtem rozprawy są protokoły pomiarowe przyjmowane dla różnych modalności. Kluczowym przy pomiarach jest błąd pomiaru. Jaki jest zatem błąd pomiaru dla wybranych, najistotniejszych zdaniem Autorki, sekwencji pozyskanych obrazów? Jakiego typu to są schorzenia czy problemy biologiczne?
2. W podrozdziale 2.2.1 Autorka opisuje scenariusze pomiarowe odnosząc się też do doboru pola pomiarowego, ustalania czasu pomiaru czy doboru parametrów inkubacji. Czy w związku z tym Autorka przeprowadzała pomiary wrażliwości wybranego protokołu pomiarowego na zmianę parametrów akwizycji danych? Jak wpływa np. gęstość hodowli komórkowej, o której wspomniano w podrozdziale 2.2.2 na otrzymywane wyniki?
3. Czy był przez Autorkę analizowany wpływ warunków inkubacji 37°C i 5% CO₂ o których mowa na str. 22 na otrzymywane wyniki? Przykładowo w jaki sposób wpływa zmiana stężenia CO₂ w zakresie od 4.9% do 5.1% na hodowlę?
4. W całej pracy zabrakło mi odniesienia do części medycznej/biologicznej w zakresie praktycznego wykorzystania opracowanych metod i technik pomiarowych i analizy danych. Moim zdaniem interesujące byłoby odniesienie się liczbowe do otrzymywanych wyników i porównanie tych wyników z weryfikacją lekarza specjalisty/biologa. Jakie są w tym zakresie różnice między dotychczasowymi

metodami obrazowania i opartą o nie diagnozą lekarską a tymi metodami, które Autorka proponuje w rozprawie?

Błędy redakcyjne:

1. W rozprawie zauważyłem kilka drobnych błędów literowych, interpunkcyjnych: np. "x" stosowany w określaniu rozdzielczości obrazów powinien zostać zamieniony na symbol iloczynu kartezjańskiego " \times "; tabela 2.1 posiada mylące powielone opisy na stronie 18 i 19; nazwy zmiennych raz są zapisywane czcionką z pochyleniami np. we wzorach na str. 29, 30 a raz bez pochylenia str. 23.
2. Sformułowanie „zszyto” i „szycie” odniesione do łączenia wielu obrazów, występujące wielokrotnie w rozprawie, powinno być moim zdaniem zastąpione łączeniem obrazów.

Wskazane drobne błędy merytoryczne i redakcyjne w żaden sposób nie umniejszają dużego wkładu Doktorantki w metody analizy i przetwarzania obrazów holograficznych i innych stosowanych w inżynierii biomedycznej. Stanowią jedynie wskazanie pewnych obszarów do dyskusji, które też mogą posłużyć Doktorantce jako pewne wskazówki w dalszej aktywności naukowej.

5. Podsumowanie i wnioski końcowe

Po szczegółowej analizie całej rozprawy łącznie z przedstawionym cyklem artykułów, stwierdzam, że Pani mgr inż. Maria Baczevska wykazała się dużą wiedzą z zakresu rozwoju i zastosowania ilościowych technik obrazowania w zastosowaniach biomedycznych. Rozprawa doktorska mgr inż. Marii Baczevskiej pt. "Holograficzne ilościowe obrazowanie fazowe ze wspomaganie multimodalnym w zastosowaniach biomedycznych na poziomie komórkowym" jest oryginalnym, interesująco przedstawionym, uzasadnionym i twórczym wkładem w dyscyplinę inżynieria biomedyczna. Niniejsza rozprawa doktorska zawiera poprawnie sformułowany i rozwiązany problem badawczy oraz posiada bardzo duży aspekt praktyczny, stanowi zatem oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Zgodnie z powyższym stwierdzam, że mgr inż. Maria Baczevska spełnia wymogi formalne, o których mowa w ustawie art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym

i nauce (Dz. U. z 2021 r., poz. 478 ze zmianami) w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora. W związku z powyższym, wnioskuję o dopuszczenie mgr inż. Marii Baczewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponieważ przedstawiona rozprawa wyraźnie wykracza poza typowy poziom przyjęty dla rozpraw doktorskich w dyscyplinie inżynieria biomedyczna, wnioskuję o jej wyróżnienie.

Koprowski