



Warszawa, 16.02.2025 r.

Dr hab. Magdalena Stobiecka, prof. SGGW  
e-mail: magdalena\_stobiecka@sggw.edu.pl  
tel.: +48 22 59 38614

### RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pana mgr. inż. Bartłomieja Dąbrowskiego  
pt. „Badania nad wnikaniem utlenionego grafenu do komórek ssaczych”  
wykonanej w Katedrze Biotechnologii Medycznej,  
Wydziału Chemicznego, Politechniki Warszawskiej,  
pod kierunkiem Pana Prof. dr. hab. inż. Zbigniewa Brzózki  
oraz Pani dr inż. Agnieszki Żuchowskiej (promotora pomocniczego)

Przedstawiona do recenzji praca doktorska dotyczy badania wpływu rozmiaru płatków utlenionego grafenu (GO) i utlenionego grafenu inkubowanego z ludzką surowicą na efektywność ich wnikania do komórek ssaczych. W szczególności, Pan mgr inż. Bartłomiej Dąbrowski podjął się scharakteryzowania wybranych frakcji utlenionego grafenu, badania ich wpływu na żywotność i aktywność metaboliczną komórek, badania efektywności wnikania utlenionego grafenu do komórek i jego wewnątrzkomórkowej lokalizacji. Głównym modelem badawczym była ludzka nowotworowa linia komórkowa niedrobnokomórkowego raka płuc (A549), prawidłowe komórki płuc (LL24) oraz ludzkie komórki śródbłonka żyły pępowinowej (HUVEC) hodowane w sposób standardowy oraz przy użyciu mikrosystemu Cell-on-a-Chip. Badania wpisują się w cykl badań prowadzonych w Katedrze Biotechnologii Medycznej, w grupie Profesora Zbigniewa Brzózki, w której Doktorant wykonywał swoją pracę eksperymentalną.

Uzyskane i zaprezentowane w rozprawie wyniki badań poszerzają naszą wiedzę na temat właściwości biologicznych utlenionego grafenu,

---

Szkoła Główna Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie

Instytut Biologii  
Katedra Fizyki i Biofizyki

ul. Nowoursynowska 159  
02-776 Warszawa  
+48 22 59 38611  
kfb@sggw.edu.pl  
www.sggw.pl  
www.kf.sggw.pl



oddziaływania GO z różnymi typami komórek (komórkami nabłonka, śródbłonka, fibroblastami, komórkami nowotworowymi i prawidłowymi) i efektywności procesu wnikania GO do komórek pomagając w lepszym zrozumieniu tego zjawiska w warunkach bliższych warunkom *in vivo* poprzez zastosowanie modelu komórkowego opartego o technologię Cell-on-a-Chip.

### Ocena formalno-redakcyjna pracy

Przedstawiona do recenzji praca doktorska napisana jest w języku polskim i liczy łącznie 145 stron, 62 rysunki i 11 tabel. Rozpoczyna się **Streszczeniami** w języku polskim i angielskim. Następnie jest **Spis treści**. Rozprawa podzielona jest na cztery części. **I Część literaturowa**, liczy 37 stron i podzielona jest na 5 głównych rozdziałów oraz 17 podrozdziałów. **II Część doświadczalna**, liczy 83 strony i zawiera 3 rozdziały oraz 52 podrozdziały. III Część stanowi **Podsumowanie i wnioski końcowe** (2 strony), a IV Część **Bibliografia** (10 stron) zawiera 120 pozycji literatury naukowej. Rozprawa doktorska kończy się **Podziękowaniami i Dorobkiem Naukowym** Doktoranta.

Styl pracy jest bardzo dobry, chociaż w tekście zdarzają się literówki i błędy gramatyczne (np. str. 11, linia 13: „różnic się” zamiast „różnić”; str. 13, linia 6 od dołu: „kwalencyjne modyfikację” zamiast „modyfikacje”; str. 15, linia 7: „przeczepione” zamiast „przyczepione”; str. 31, linia 14 od dołu: brak spacji między liczbą i jednostką; str. 37, linia 2: „oceniło” zamiast „ocenili”; str. 56, linia 16: „rezazuryny” zamiast „resazuryny” (także linia 18); str. 56, linia 17: „rezazuryny” zamiast „resazuryny”; str. 61, linia 1: „jedynie za przy pomocy” zamiast „jedynie przy pomocy”; str. 63, linia 2: „ocenionow” zamiast „oceniono”; str. 66, linia 10 od dołu: „CH2” zamiast „CH<sub>2</sub>” (również na Rys. 21); str. 76, linia 3 od dołu: „go” zamiast „GO”; str. 77, linia 11: „posłużono płatkami GO” zamiast „posłużono się płatkami GO”). Na Rysunkach 22 i 23, intensywność sygnału widm Ramana powinna być w jednostkach umownych [j.u.], a na Rys. 22 jednostka liczby falowej powinna być sformatowana i wynosić [cm<sup>-1</sup>]. W pracy dostrzeżono także angielskie nazwy/skróty, które mają odnośniki w języku polskim np. „TrypanBlue” można byłoby zastąpić polską nazwą „błękit trypanowy”, skrót „h” – „godz.”.

Podsumowując, chciałabym stwierdzić, że praca wyróżnia się wysokim poziomem naukowym, a przytoczone powyżej drobne błędy redakcyjne nie mają wpływu na wysoką wartość merytoryczną pracy oraz na odbiór i zrozumiałość całej rozprawy. Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska od strony formalnej nie budzi moich zastrzeżeń.



## Ocena merytoryczna

**I Część literaturowa** ma charakter teoretyczny i zostały w niej omówione główne zagadnienia składające się na problem badawczy podjęty w rozprawie doktorskiej. W pierwszym rozdziale zatytułowanym Wstęp, Doktorant podkreślił słuszność wyboru tematyki swojej pracy. W kolejnych rozdziałach i podrozdziałach, Pan mgr inż. Bartłomiej Dąbrowski przedstawił aktualny stan wiedzy dotyczący właściwości i zastosowania utlenionego grafenu w badaniach biomedycznych. Podał przykłady wykorzystania GO w terapiach: genowej i fotodynamicznej, chemioterapii i teranostyce. Zostały zdefiniowane procesy tj. endocytoza i jej typy, makropinocytoza, fagocytoza. W pracy zostały przedstawione typy hodowli komórkowych oraz zostały podniesione główne kwestie związane m.in. z wpływem typu komórki, rozmiaru płatków i modyfikacji powierzchni GO na wnikanie nanomateriału do komórek.

W **II Części doświadczalnej**, w rozdziale pierwszym, został jasno i precyzyjnie sformułowany cel pracy, który Doktorant konsekwentnie realizował odpowiadając na następujące pytania:

1. Czy wielkość płatków utlenionego grafenu ma wpływ na efektywność jego wnikania do komórek ssaczych?
2. Czy kontakt utlenionego grafenu z surowicą ma wpływ na jego efektywność wnikania do komórek ssaczych?
3. Czy efektywność wnikania utlenionego grafenu do komórek ssaczych zależy od typu komórek?
4. Jaka jest wewnątrzkomórkowa lokalizacja utlenionego grafenu po wniknięciu do komórek?

W następnym rozdziale zatytułowanym Materiały i metody badań, podzielonym na 7 podrozdziałów, przedstawiono m.in. listę aparatury pomiarowej, drobnego sprzętu laboratoryjnego, linii komórkowych i odczynników, które Doktorant stosował w m.in. hodowli komórkowej, inkubacji płatków utlenionego grafenu z surowicą krwi, przy określeniu cytotoksyczności GO i efektywności wnikania GO do komórek czy opracowaniu mikroukładu przepływowego. Zastosowane metody zostały poprawnie dobrane do założonego celu. Poszczególne procedury pomiarowe użyte w pracy laboratoryjnej zostały opisane w sposób wystarczająco szczegółowy. W Rozdziale trzecim, zatytułowanym Wyniki, Doktorant bardzo szczegółowo przedstawił wyniki swoich badań wraz z dyskusją i wnioskami wyciągniętymi na podstawie uzyskanych wyników. Pan mgr inż. Bartłomiej Dąbrowski przeprowadził szereg eksperymentów mających na celu charakterystykę otrzymanych frakcji GO, ocenę wpływu GO na aktywność metaboliczną i żywotność komórek A549, LL24, HUVEC, ocenę wnikania GO do komórek i badanie



lokalizacji wewnątrzkomórkowej GO w standardowych hodowlach komórkowych oraz w mikrosystemach przepływowych typu Cell-on-a-Chip.

W **III Części** rozprawy doktorskiej zatytułowanej **Podsumowanie i wnioski końcowe**, Pan mgr inż. Bartłomiej Dąbrowski podsumowując wyniki swoich doświadczeń poprawnie sformułował ostateczne wnioski, wymienił elementy nowości naukowej i wskazał na dalsze możliwe kierunki badań. Na szczególne podkreślenie zasługuje, według recenzenta, wykorzystanie w badaniach mikroukładu przepływowego, w którym warunki hodowli komórek zbliżone są do warunków *in vivo*.

**IV Część** doktoratu, **Bibliografia**, obejmuje dobrze dobrane i odpowiadające zagadnieniom poruszonym w poszczególnych rozdziałach i podrozdziałach rozprawy doktorskiej artykuły naukowe i jedną pozycję książkową.

Na końcu rozprawy Doktorant załączył swój **Dorobek Naukowy**. Wynika z niego, że zainteresowania naukowe Pana mgr. inż. Bartłomieja Dąbrowskiego wykraczają także poza tematykę rozprawy doktorskiej. Cztery publikacje, których tematyka nie była związana z pracą doktorską świadczą o aktywności badawczej Doktoranta. W trzech publikacjach Pan mgr inż. Bartłomiej Dąbrowski jest pierwszym autorem, co świadczy o bardzo dużym zaangażowaniu w badania opisane w publikacjach. Doktorant jest współautorem łącznie 7 publikacji naukowych, beneficjentem Zespołowej nagrody Rektora PW oraz uczestniczył w międzynarodowej konferencji naukowej Biosensors 2020.

Każda praca naukowa, także rozprawa doktorska Pana mgr. inż. Bartłomieja Dąbrowskiego, otwiera kolejne wątki dyskusji. Po przeczytaniu pracy nasuwają się pewne pytania.

1. Na str. 56, Doktorant napisał: „Intensywność fluorescencji resazuryny jest miarą aktywności metabolicznej komórek”. Resazuryna jest aktywnym, nietoksycznym składnikiem odczynnika alamar Blue, związkiem prawie niefluorescencyjnym w kolorze niebieskim. Po wnikięciu do żywych komórek jest zredukowana do różowego, silnie fluorescencyjnego związku rezorufiny. W związku z tym, skoro test określa aktywność metaboliczną żywych komórek zdolnych do przekształcania resazuryny w rezorufinę czy nie lepiej byłoby napisać, że „Intensywność fluorescencji rezorufiny powstałej po redukcji resazuryny jest miarą aktywności metabolicznej komórek”?
2. Na Rysunkach 24-26 jest przedstawiona zależność aktywności metabolicznej komórek (odpowiednio dla linii A549, LL24, HUVEC) od czasu inkubacji z frakcjami GO (0, 48, 72 godz.). Jednostka aktywności metabolicznej przedstawiona na wykresach to [u.]. Czy Doktorant miał na myśli jednostki umowne [j.u.] używane w spektroskopii do wyrażania intensywności



fluorescencji? Na przedstawionych wykresach pokazane są wyniki zarówno dla kontroli jak i prób badanych czyli Doktorant obserwował w tym przypadku intensywność fluorescencji rezorufiny powstałej po redukcji resazuryiny przez metabolicznie aktywne komórki?

3. Na str. 57 Doktorant napisał, że „Wpływ badanego materiału na aktywność metaboliczną komórek oceniono poprzez porównanie intensywności fluorescencji próbki do intensywności fluorescencji kontroli mierzonych tego samego dnia”. Na Rysunkach 34-36, przedstawiona jest zależność aktywności metabolicznej komórek (odpowiednio dla linii A549, LL24, HUVEC) dla różnych stężeń inhibitorów szlaków endocytozy. Jednostką aktywności metabolicznej jest [% kontroli]. Czy nie lepszym rozwiązaniem byłoby wprowadzenie znormalizowanej/relatywnej wartości na osi Y, żeby nie budzić wątpliwości w jaki sposób wyniki są przedstawiane?
4. Na Rysunkach 24 i 25 pokazana jest analiza statystyczna, ale brakuje wymienienia zastosowanego testu statystycznego i poziomu istotności w legendzie Rysunków.

Powyzsze pytania mają charakter dyskusyjny i nie umniejszają mojej oceny recenzowanej pracy.

Podsumowując tę część recenzji, bardzo wysoko oceniam wartość merytoryczną recenzowanej rozprawy doktorskiej i poziom naukowy uzyskanych wyników, które były efektem dobrze zaplanowanych i poprawnie wykonanych eksperymentów. Doktorant osiągnął swój cel. Zakres badań realizowany przez Pana mgr. inż. Bartłomieja Dąbrowskiego w ramach pracy doktorskiej ma charakter nowatorski i charakteryzuje się interdyscyplinarnym ujęciem badanego problemu. Otrzymano interesujące wyniki, które poszerzają wiedzę na temat efektywności wnikania różnej wielkości płatków utlenionego grafenu bez lub z zaadsorbowanymi składnikami surowicy do komórek ssaczyh. Wnoszą istotny wkład w bardzo ważny obszar badań ukierunkowany na opracowywanie m.in. efektywnych terapii przeciwnowotworowych wykorzystujących nanomateriały jako nośniki leków, które mogą zostać wykorzystane w przyszłości w praktyce klinicznej. Na szczególne podkreślenie zasługuje, według recenzenta, również wykorzystanie układów mikroprzepływowych do prowadzenia hodowli komórek w formie monokultur i kokultur oraz badanie lokalizacji wewnątrzkomórkowej utlenionego grafenu w warunkach przepływowych.

#### **Wniosek końcowy**

Biorąc pod uwagę wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej Pana mgr. inż. Bartłomieja Dąbrowskiego stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska spełnia kryteria stawiane kandydatom



ubiegającym się o stopień naukowy doktora określone w Ustawie. Przedstawiona do oceny praca doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktoranta w dyscyplinie oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Pan mgr inż. Bartłomiej Dąbrowski zaproponował i rozwiązał problem naukowy o niezwykle istotnym z punktu widzenia społecznego znaczeniu. Otrzymane przez Doktoranta wyniki mają duży potencjał poznawczy i aplikacyjny. Na podkreślenie zasługuje również imponujący rozmiar zrealizowanej pracy związanej z hodowlą komórek, opracowywaniem mikrosystemów przepływowych, pomiarami fizykochemicznymi i spektroskopowymi oraz obrazowaniem mikroskopowym. Świadczy to o doskonałym opanowaniu przez Doktoranta szerokiego zakresu nowoczesnych metod badawczych.

W związku z przedstawioną wyżej pozytywną oceną całej pracy doktorskiej **wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Biotechnologia Politechniki Warszawskiej o dopuszczenie Pana mgr. inż. Bartłomieja Dąbrowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Ze względu na oryginalną, ważną społecznie i aktualną tematykę badawczą, elementy nowości naukowej, interdyscyplinarne ujęcie badanego problemu, możliwość bardziej efektywnego opracowywania nanomateriałów do zastosowania w medycynie oraz całkowity dorobek Doktoranta poparty publikacjami o zasięgu międzynarodowym, **zgłaszam Radzie Naukowej Dyscypliny Biotechnologia Politechniki Warszawskiej wniosek o wyróżnienie niniejszej rozprawy.**

Magdalena Stohrecka