**Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Chemiczny**
Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27
**50-370 Wrocław**
Prof. Paweł Kafarski
e-mail: pawel.kafarski@pwr.wroc.pl
web page: http://bioorganic.ch.pwr.wroc.pl

Wrocław 10.10.2019

**Recenzja pracy doktorskiej Pani mgr inż. Agnieszki ŻUCHOWSKIEJ**
***„Badania nad zastosowaniem pochodnych grafenu w terapii przeciwnowotworowej z wykorzystaniem przepływowych systemów* Lab-on-a-Chip"**

Praca doktorska Pani mgr inż. Agnieszki Żuchowskiej wykonana została na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej pod opieką prof. dr hab. inż. Zbigniewa Brzózki i dr hab. inż. Elżbiety Jastrzębskiej. Jak wszystkie prace wykonywane pod opieką prof. Zbigniewa Brzózki także i ta rozprawa jest przykładem bardzo solidnej, dobrze wykonanej i przemyślanej pracy naukowej. Zadaniem jaki postawiła sobie Doktorantka była konstrukcja takich układów mikroanalitycznych, w których hodowla komórek ludzkich w postaci sferoidów (Autorka nazywa je hodowlami 3D) mogłaby służyć do badania aktywności przeciwnowotworowej. Celem, jaki postawiła Ona sobie w tej pracy było zbadanie możliwości zastosowania tlenków grafenu, jako nośników leków fotodynamicznych. Chyba tak zakreślony zakres pracy był zbyt ambitny i dlatego nie starczyło czasu na kowalencyjne związanie tych leków z nośnikiem i zbadaniem aktywności otrzymanych koniugatów. Nie znaczy to bynajmniej, że praca doktorska Pani mgr inż. Agnieszki Żuchowskiej nie jest sukcesem – jest. Aby zrealizować główny cel pracy Doktorantka przeprowadziła przemyślany i skomplikowany zestaw badań. Rozpoczęła je od scharakteryzowania grafenu użytego w badaniach, jego funcjonalizacji glukozaminą i etylenodiaminą oraz wykazania, że te formy grafenu nie są praktycznie cytotoksyczne wobec ludzkich linii komórkowych - nowotworowych i ludzkich fibroblastów użytych, jako referencyjna linia komórkowa. Równolegle zaprojektowała Ona i otrzymała trzy mikroukłady analityczne dedykowane optymalizacji hodowli komórek sferoidalnych, oraz czwarty zaprojektowany do dokonania równoległych badań wpływu tlenku grafenu, jego funkcjonalizowanych form, a następnie aktywności dwóch leków fotodynamicznych na rozwój komórek sferoidalnych i równolegle dla klasycznie hodowanych na płaskim podłożu (w jednym mikroukładzie). Te rozwiązania techniczne zostały zgłoszone do opatentowania (4 zgłoszenia). W końcu zbadała Ona fotodynamiczną aktywność mezo-tetrafenyloporfiryny, jej formy zamkniętej w nośniku polimerowym i związanej adsorpcyjnie z tlenkiem grafenu wykazując nieco lepszą aktywność ostatniego układu.

Już samo wymienienie etapów pracy badań stanowiących podstawę doktorskiej pokazuje ogrom pracy, jaki musiała wykonać Doktorantka. Nie pokazuje ono jednak liczby różnorodnych technik laboratoryjnych, niejednokrotnie niełatwych do opanowania, jakich użyła w badaniach.

Podsumowując, stwierdzam, że zarówno zakres badań, staranność ich wykonania, dociekliwość Autorki rozprawy doktorskiej oraz wiele małych „smaczków; jakie znalazłem w tej pracy budzą szacunek. Do tych „smaczków" zaliczyłbym:

- stwierdzenie większej podatności komórek nowotworowych na działanie tlenku grafenu, co Autorka tłumaczy fizycznym niszczeniem błon komórkowych orazr óżnym sposobem oddzieływania tlenku grafenu z komórkami;
- koncepcja, że podwyższony wpływ tlenku grafenu i jego funcjonalizowanych form silniej wpływa na proliferację komórek prawidłowych wynika ze zdolności grafenu do konkurowania z komórkami o składniki odżywcze;
- zaprojektowanie niezwykle sprytnego systemu, jakim jest tzw. mikrosystem III.

Zarówno opis eksperymentów, jak i omówienie wyników stanowią silną stronę pracy. Chciałbym pochwalić sposób opisu prowadzenia kolejnych eksperymentów, wnikliwą analizę otrzymanych wyników i kreatywną dyskusję możliwych mechanizmów obserwowanych zjawisk. Konstrukcja omówienia wyników jest nietypowa, gdyż opis każdej serii badań zakończony jest dyskusją a następnie zgrabnym podsumowaniem. Przy tak obszernym materiale faktograficznym jest to dobre rozwiązanie. Cała praca kończy się obszernym podsumowaniem wykonanych badań. Wolałbym raczej, aby był to krótki paragraf poświęcony wnioskom. Tak więc, praca doktorska Pani mgr inż. Agnieszki Żuchowskiej niewątpliwie wyróżnia się tym, że badania zostały niezmiernie szczegółowo zaprojektowane i bardzo skrupulatnie zrealizowane.

Tradycyjnie, praca poprzedzona jest przeglądem literatury, który tradycyjnie stanowi nieco ponad 30% objętości pracy. Niestety ten przegląd jest słabą stroną recenzowanej pracy doktorskiej. Nawet miałem wrażenie jakby te dwie części pisały dwie różne osoby. Po prostu wstęp ten napisany jest nieporadnie, brzydką polszczyzną i zawiera duży ładunek wyrażeń żargonowych. Moim zdaniem wynika to z faktu, że Pani mgr inż. Agnieszka Żuchowska chciała zamieścić tu zbyt wiele informacji jednocześnie starając się, aby wstęp był krótki. Nie będę się znęcał na Doktorantką i wymienię tylko te uchybienia, które uważam za najważniejsze (w kolejności przypadkowej):

- zalecam Doktorantce uważne przeczytanie dwóch ostatnich zdań na stronie 19 i zastanowienie się, co chciała przekazać czytelnikowi; podobna uwaga dotyczy trzeciego zdania w paragrafie 2.4.1.; takich dziwnych sformułowań jest w pracy więcej;
- bardzo często pojawia się paskudny zwrot: „związki zostały opracowane" - w chemii medycznej związki się projektuje;
- co Autorka rozumie pod nazwą „pierścień monokwasowy pochodnej benzoporfiryny"? (str.21);
- ostatni akapit na stronie 22 przeniósłbym do paragrafu 2.4.;

- długość wiązań w grafenie jest 0,142 nm a nie 0,0142 nm (str. 26);
- jeśli grafen jest materiałem dwuwymiarowym to nie może mieć grubości (str.27);
- Autorka bardzo często używa brzydkiego sformułowania „toksyczność na komórki";
- co to jest „próg nerkowy"? (str. 31);
- co to jest „analiza panelu krwi pełnej"? (str. 34);
- powodem odrzucenia dużej liczby kandydatów na lek nie są złe metody skryningowe (str. 41), ale fakt, że stwierdzenie samej aktywności stosując dowolny system to dopiero początek długiej drogi wymagającej wielu badań i pieniędzy;
- na str, 57 pojawiają się meso-tetrafenyloporfiryny, podczas gdy w pozostałych miejscach już prawidłowo mezo-tetrafenyloporfiryny.

Praca Pani dr inż. Agnieszki Żuchowskiej spełnia z naddatkiem wszystkie warunki, zarówno ustawowe jak i zwyczajowe, jakie stawia się pracom doktorskim, nawet biorąc pod uwagę moją krytyczną ocenę wstępu literaturowego. Wnoszę, zatem do Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Recenzowana przez mnie praca doktorska robi niezwykle pozytywne wrażenie a zakres wykonanych badań wzbudza szacunek. Dlatego, biorąc pod uwagę wartość naukową rozprawy wnoszę o jej wyróżnienie stosowną nagrodą. Mój wniosek uzyskuje pełne poparcie w tym, że Doktorantka jest współautorką sześciu poważnych publikacji naukowych powstałych w rezultacie realizacji doktoratu, czterech zgłoszeń patentowych i pięciu prac niezwiązanych z tematyką doktoratu. To również ponadstandardowe osiągnięcie.