

Warszawa, 02.01.2026

Dr hab. Marta Grodzik, prof. SGGW
Katedra Nanobiotechnologii
Instytut Biologii
Ul. Nowoursynowska 166
02-786 Warszawa

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Elżbiety Jarosińskiej

pt. „*Opracowanie elektrochemicznych macierzy czujnikowych do monitorowania hodowli komórkowych*”

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem:

prof. dr hab. Andresa Martina Jönsona-Niedziółki (promotor)

oraz dr inż. Emilii Witkowskiej – Nery (promotor pomocniczy)

Niniejsza recenzja została sporządzona w związku z powołaniem na recenzenta przez Radę Naukową Instytutu Chemii Fizycznej PAN, na mocy uchwały z dnia 14 października 2025 r.

1. Znaczenie problematyki podjętej w recenzowanej rozprawie doktorskiej

Przedłożona rozprawa doktorska pt. „*Opracowanie elektrochemicznych macierzy czujnikowych do monitorowania hodowli komórkowych*” dotyczy opracowania elektrochemicznych macierzy czujnikowych przeznaczonych do monitorowania hodowli komórkowych, ze szczególnym uwzględnieniem pomiarów tlenu, impedancji oraz – w zamierzeniu – parametrów metabolicznych związanych z glukozą. Tematyka pracy mieści się na styku chemii, bioinżynierii, elektrochemii analitycznej oraz biologii komórki i wpisuje się w aktualne kierunki rozwoju nowoczesnych narzędzi do badań *in vitro*, w tym systemów typu lab-on-chip oraz rozwiązań wspierających badania toksykologiczne i farmakologiczne.

Monitoring parametrów mikrośrodowiska hodowli komórkowej w czasie rzeczywistym stanowi istotne wyzwanie badawcze. Klasyczne metody oceny stanu komórek – oparte na testach końcowych (end-point), takich jak testy żywotności czy analizy biochemiczne po pobraniu próbki – nie dostarczają informacji o dynamice procesów metabolicznych ani o przejściowych zmianach zachodzących w trakcie eksperymentu. Z tego względu rozwój zintegrowanych czujników umożliwiających ciągły pomiar parametrów fizykochemicznych, takich jak stężenie tlenu czy zmiany impedancji, ma duże znaczenie zarówno dla badań podstawowych, jak i aplikacyjnych.

Na tym tle należy podkreślić, że wybór tlenu jako jednego z kluczowych parametrów monitorowanych w pracy jest w pełni uzasadniony. Tlen odgrywa centralną rolę w metabolizmie komórkowym, a jego lokalna dostępność w hodowlach *in vitro* często istotnie różni się od warunków nominalnych deklarowanych dla inkubatorów. Szczególnie w układach o zwiększonej gęstości komórek, w hodowlach 3D lub w systemach o ograniczonej dyfuzji, pomiar tlenu w bezpośrednim sąsiedztwie komórek może dostarczać informacji trudnych do uzyskania innymi metodami. Również zastosowanie pomiarów impedancyjnych jako wskaźnika adhezji i zmian morfologicznych komórek jest zgodne z aktualnymi trendami w badaniach bioelektronicznych.

Rozprawa podejmuje także próbę rozszerzenia funkcjonalności opracowanego systemu o pomiar glukozy, co – w ujęciu koncepcyjnym – miałyby umożliwić bardziej kompleksową ocenę metabolizmu komórkowego. Takie podejście odpowiada rosnącemu zainteresowaniu narzędziami zdolnymi do jednoczesnego monitorowania kilku parametrów fizjologicznych w czasie rzeczywistym. Należy jednak zaznaczyć, że integracja enzymatycznych czujników glukozy z systemami hodowli komórkowych stanowi zagadnienie metodologicznie trudne i obarczone istotnymi ograniczeniami, co znajduje odzwierciedlenie w dalszych częściach rozprawy.

Istotnym elementem pracy jest również analiza i dobór warstw antyporostowych (antifouling), których zadaniem jest ograniczenie adsorpcji białek i innych składników pożywki na powierzchni elektrod. Problem foulingu stanowi jedno z kluczowych wyzwań w rozwoju biosensorów pracujących w środowiskach biologicznych, a jego nieuwzględnienie prowadzi często do niestabilności sygnału i ograniczonej powtarzalności pomiarów. Podjęcie przez

Autorkę systematycznego screeningu różnych materiałów ochronnych należy ocenić jako działanie uzasadnione i zgodne z dobrymi praktykami inżynierskimi.

Z punktu widzenia znaczenia naukowego rozprawa wpisuje się w nurt badań nad miniaturyzacją i integracją czujników elektrochemicznych z układami biologicznymi. Praca ma charakter interdyscyplinarny i wymagała od Autorki łączenia kompetencji z zakresu elektrochemii, materiałoznawstwa oraz biologii komórkowej. Należy również podkreślić, że wyniki pracy zostały w częściowo opublikowane w czasopiśmie naukowych, co potwierdza widoczność i rozpoznawalność Autorki w środowisku naukowym.

Jednocześnie należy zauważyć, że rozprawa ma w dużej mierze charakter badawczo-koncepcyjny i prototypowy. Opracowany system czujnikowy należy traktować przede wszystkim jako platformę badawczą, a nie rozwiązanie gotowe do bezpośredniego wdrożenia. W pracy zarysowano potencjalne kierunki aplikacyjne, jednak pełna walidacja biologiczna oraz metodologiczna – niezbędna dla jednoznacznej interpretacji pomiarów metabolicznych – nie została w każdym przypadku doprowadzona do końca. Nie umniejsza to znaczenia podjętej tematyki, ale wyznacza wyraźnie granice wnioskowania płynącego z przedstawionych wyników.

Podsumowując, tematyka rozprawy jest aktualna, ambitna i istotna z punktu widzenia rozwoju nowoczesnych narzędzi do badań hodowli komórkowych. Praca porusza realne problemy metodologiczne współczesnej bioinżynierii i podejmuje próbę ich rozwiązania poprzez integrację czujników elektrochemicznych z układami biologicznymi. Znaczenie rozprawy należy ocenić jako wysokie w kontekście badań podstawowych i rozwojowych, przy jednoczesnym zastrzeżeniu, że część zaproponowanych rozwiązań wymaga dalszej, pogłębionej walidacji.

2. Formalna ocena pracy

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie monografii naukowej i obejmuje sześć zasadniczych rozdziałów, poprzedzonych wstępem oraz zakończonych podsumowaniem i perspektywami dalszych badań. Układ pracy jest logiczny i konsekwentny, prowadząc czytelnika od części o charakterze przeglądowym, poprzez zagadnienia metodologiczne i technologiczne, aż do badań prowadzonych na modelach biologicznych 2D i 3D. Taka konstrukcja odpowiada ogólnym standardom rozpraw doktorskich w obszarze nauk inżynierskich i biomedycznych.

Jednocześnie należy podkreślić, że Autorka zastosowała układ modułowy, w którym kolejne zagadnienia badawcze omawiane są w tematycznie zamkniętych blokach zawierających własne wprowadzenia, opisy metod oraz części „Wyniki i dyskusja”. Rozwiązanie to sprzyja przejrzystości poszczególnych etapów badań i ułatwia śledzenie logiki eksperymentalnej w obrębie rozdziałów. W częściach tych Autorka konsekwentnie formułuje cele badań częściowych, co świadczy o przemyślanym planie pracy i dobrej kontroli nad realizacją kolejnych zadań badawczych.

Taki sposób organizacji materiału, choć funkcjonalny na poziomie poszczególnych eksperymentów, odbiega jednak od klasycznego, syntetycznego układu rozprawy doktorskiej, obejmującego wyraźnie wyodrębnione części: przegląd literatury, jednoznacznie sformułowany cel i hipotezy, metodykę, wyniki, ich całościową dyskusję oraz wnioski. W konsekwencji brak jest centralnego miejsca, w którym uzyskane wyniki zostałyby poddane przekrojowej analizie i jednoznacznie odniesione do celu głównego pracy oraz hipotez badawczych.

Zastosowany układ powoduje, że synteza wyników i ich interpretacja na poziomie całej rozprawy pozostają w znacznej mierze po stronie czytelnika. Utrudnia to ocenę stopnia realizacji deklarowanego we Wstępie celu głównego oraz spójności pomiędzy poszczególnymi etapami badań. W tym sensie rozprawa w większym stopniu eksponuje poprawność i rzetelność realizacji kolejnych zadań eksperymentalnych niż zdolność do ich uogólnienia i integracji w spójną koncepcję badawczą.

Z perspektywy formalnej nie stanowi to wady dyskwalifikującej pracę, jednak w kontekście rozprawy doktorskiej, której istotnym elementem jest wykazanie umiejętności syntetycznego myślenia, krytycznego łączenia wyników pochodzących z różnych obszarów oraz formułowania uogólnionych wniosków, należy uznać ten aspekt za słabszy punkt opracowania. Uwagi te nie podważają wartości merytorycznej przedstawionych badań, lecz wskazują na ograniczenia formalne przyjętego sposobu prezentacji wyników.

3. Cel pracy, hipotezy badawcze oraz spójność celów i ich realizacji

W rozprawie nie wyodrębniono osobnego rozdziału poświęconego jednoznacznemu sformułowaniu celu pracy oraz hipotez badawczych. Cele i założenia badawcze są rozproszone w treści pracy i wynikają implicite z układu poszczególnych rozdziałów. Należy jednak zaznaczyć, że w rozdziale „Wstęp” Autorka formułuje główny cel pracy, wskazując, **iż było nim opracowanie macierzy elektrodowej umożliwiającej jednoczesną analizę stężenia tlenu oraz glukozy w trójwymiarowej hodowli komórkowej na rusztowaniach hydrożelowych**. Deklaracja ta wyznacza ambitny i jasno określony kierunek badań, koncentrujący się na zintegrowanym monitorowaniu parametrów metabolicznych w układach 3D.

Analiza struktury rozprawy wskazuje jednak, że zakres zrealizowanych badań był szerszy i obejmował kolejne etapy rozwoju systemu czujnikowego: od opracowania i charakterystyki elektrochemicznej macierzy elektrodowej, poprzez dobór materiałów elektrodowych, katalizatorów redukcji tlenu oraz warstw przeciwpoporostowych, aż po ocenę funkcjonalności systemu w hodowlach komórkowych 2D i – w ograniczonym zakresie – 3D. Tym samym realizacja pracy miała charakter etapowy i rozwojowy, a poszczególne rozdziały pełniły funkcję weryfikacji celów cząstkowych.

Cele cząstkowe są wyraźnie artykułowane w częściach „Wyniki i dyskusja” kolejnych rozdziałów rozprawy. W rozdziale 2 celem badań było opracowanie i charakterystyka macierzy

elektrodowej oraz dobór katalizatorów redukcji tlenu umożliwiających pomiar O_2 przy niskim nadpotencjale. W rozdziale 3 celem było porównanie i wybór warstw przeciwpoporostowych zapewniających stabilność sygnału elektrochemicznego w środowisku hodowli komórkowej. Rozdział 4 koncentrował się na ocenie możliwości wykorzystania opracowanej macierzy elektrodowej do monitorowania hodowli komórkowych w układzie 2D, w tym analizy odpowiedzi komórek HepG2 na działanie acetaminofenu. Wreszcie rozdział 5 stanowił próbę rozszerzenia zastosowania systemu na trójwymiarowe hodowle komórkowe na rusztowaniach hydrożelowych GelMa, z uwzględnieniem porównania pomiarów tlenu metodą elektrochemiczną i optyczną.

Zestawienie deklarowanego celu głównego oraz celów cząstkowych wskazuje na ogólną logiczną spójność koncepcji badawczej. Jednocześnie ujawnia się jednak istotna niesymetria pomiędzy ambitnym celem sformułowanym we Wstępie a stopniem jego realizacji. O ile cele odnoszące się do opracowania systemu oraz jego zastosowania w hodowlach dwuwymiarowych zostały w znacznej mierze zweryfikowane eksperymentalnie, o tyle kluczowy element celu głównego – jednoczesna analiza tlenu i glukozy w trójwymiarowej hodowli komórkowej – nie znalazł jednoznacznego potwierdzenia w przedstawionych wynikach. W szczególności część dotycząca monitorowania metabolizmu glukozowego oraz stabilnej pracy systemu w układach 3D ma charakter pilotażowy i obarczona jest istotnymi ograniczeniami modelowymi, co Autorka częściowo sygnalizuje w dyskusji.

Brak formalnego, syntetycznego zestawienia celu pracy, hipotez badawczych oraz kryteriów ich weryfikacji utrudnia jednoznaczną ocenę stopnia realizacji deklarowanych założeń i należy go uznać za słaby punkt formalny rozprawy. Jednocześnie należy podkreślić, że praca posiada wyraźną logikę rozwojową, a jasno zdefiniowane cele cząstkowe poszczególnych rozdziałów świadczą o przemyślanym planie badań, którego realizacja doprowadziła do uzyskania wartościowych wyników w zakresie monitorowania hodowli komórkowych metodami elektrochemicznymi.

4. Ocena merytoryczna rozprawy

Rozprawa doktorska podejmuje ambitną i aktualną problematykę z pogranicza elektrochemii analitycznej, inżynierii biomedycznej oraz biologii komórki, koncentrując się na opracowaniu macierzy elektrodowej do monitorowania parametrów metabolicznych w hodowlach komórkowych *in vitro*. Zakres pracy obejmuje zarówno aspekty technologiczne i materiałowe, jak i próby zastosowania opracowanego systemu w badaniach biologicznych, co nadaje jej wyraźnie interdyscyplinarny charakter.

Od strony elektrochemicznej rozprawa prezentuje solidny poziom merytoryczny. Autorka przeprowadziła szeroką analizę materiałów elektrodowych (Au, ITO-Au, LIG) oraz katalizatorów redukcji tlenu, dążąc do uzyskania pomiaru przy możliwie niskim nadpotencjale. Zaprezentowane wyniki wskazują, że opracowana macierz elektrodowa umożliwia rejestrację zmian stężenia tlenu w pożywce hodowlanej w sposób powtarzalny i czuły, co stanowi istotny wkład w rozwój elektrochemicznych narzędzi do monitorowania hodowli komórkowych.

Na uznanie zasługuje również systematyczne podejście do problemu foulingu, który jest jednym z kluczowych ograniczeń biosensorów pracujących w środowisku biologicznym. Przeprowadzony screening warstw przeciwporostowych oraz ocena ich stabilności elektrochemicznej i biologicznej świadczą o dobrej świadomości problemów praktycznych związanych z długotrwałym pomiarem w pożywce hodowlanej. Jednocześnie należy zauważyć, że wyniki te nie zostały w pełni spójnie przeniesione na dalsze etapy pracy (różnica w materiale, z którego wykonana została elektroda).

Istotnym zagadnieniem merytorycznym pozostaje kwestia selektywności pomiarów elektrochemicznych, w szczególności w odniesieniu do tlenu. W pracy wykazano możliwość rejestracji zmian sygnału przypisywanych redukcji tlenu w pożywce hodowlanej, jednak interpretacja tych zmian jako bezpośredniego odzwierciedlenia procesów metabolicznych komórek nie została jednoznacznie potwierdzona poprzez równoległą walidację sygnału elektrochemicznego z zastosowaniem niezależnej metody referencyjnej. Zastosowane w części badań czujniki optyczne tlenu nie zostały wykorzystane do bezpośredniego porównania i weryfikacji pomiarów elektrochemicznych, co ogranicza możliwość jednoznacznej jasno oceny selektywności i specyficzności rejestrowanego sygnału.

Analogiczne wątpliwości dotyczą pomiarów związanych z metabolizmem glukozowym. Choć jednoczesna analiza tlenu i glukozy została zadeklarowana jako element celu głównego pracy, przedstawione wyniki nie pozwalają na jednoznaczną ocenę zmian metabolizmu glukozy ani na ich powiązanie ze zmianami dostępności tlenu. W efekcie zagadnienie to pozostaje na poziomie koncepcyjnym, a nie w pełni zweryfikowanym eksperymentalnie.

Część pracy dotycząca hodowli dwuwymiarowych komórek linii HepG2 stanowi najlepiej udokumentowany fragment rozprawy. Autorka wykazała możliwość monitorowania zmian sygnału elektrochemicznego w czasie oraz reakcji komórek na działanie czynnika chemicznego (acetaminofen). Połączenie pomiarów elektrochemicznych z klasycznymi testami biologicznymi zwiększa wiarygodność uzyskanych wyników, choć korelacja pomiędzy sygnałem elektrochemicznym a parametrami biologicznymi nie została przeprowadzona w sposób ilościowy, a same wyniki biologiczne nie zostały opracowane statystycznie.

Najpoważniejsze ograniczenia merytoryczne pracy ujawniają się w części dotyczącej trójwymiarowych hodowli komórkowych. Zastosowany model hydrożelowy GelMa nie wykazał stabilności w czasie prowadzenia eksperymentów, co istotnie utrudnia interpretację uzyskanych wyników. W konsekwencji dane uzyskane dla układów trójwymiarowych mają charakter pilotażowy i wskazują na potencjał opracowanego rozwiązania, jednak nie pozwalają jeszcze na jednoznaczne wnioskowanie w zakresie monitorowania parametrów metabolicznych w tego typu hodowlach.

Pod względem merytorycznym rozprawa prezentuje wysoki poziom w części elektrochemicznej i technologicznej oraz poprawny, choć mniej pogłębiony, poziom w części biologicznej. Praca wyraźnie pokazuje, że Autorka posiada umiejętności projektowania i realizacji złożonych badań eksperymentalnych oraz dobrą orientację w problematyce

biosensorów elektrochemicznych. W rezultacie rozprawę należy ocenić jako wartościową pod względem naukowym i rozwojowym, jednak obarczoną istotnymi ograniczeniami merytorycznymi w zakresie walidacji biologicznej oraz interpretacji danych, szczególnie w odniesieniu do hodowli trójwymiarowych i monitorowania metabolizmu glukozy.

Do przedstawionej rozprawy pragnę sformułować kilka uwag i pytań, które wymagają doprecyzowania i mogłyby stanowić przedmiot dalszej dyskusji naukowej:

1. Elektrochemiczny pomiar tlenu nie jest selektywny z natury, a jego selektywność wynika z doboru potencjału pracy oraz warunków transportu masy w pobliżu elektrody. Proszę wyjaśnić, jakie przesłanki pozwoliły Autorce interpretować uzyskany sygnał elektrochemiczny w warunkach pożywki hodowlanej jednoznacznie jako funkcję stężenia tlenu, a nie jako sumę kilku możliwych reakcji redoks zachodzących w złożonym środowisku biologicznym.
2. W kontekście pomiarów glukozy proszę odnieść się do zagadnienia stabilności enzymu w zaprojektowanej elektrodzie, jego odporności na warunki sterylizacji oraz długotrwałej pracy w sterylnym środowisku hodowli komórkowej.
3. W pracy warstwy przeciwporostowe były testowane głównie na elektrodach węglowych, natomiast dalsze badania biologiczne prowadzono na elektrodach złotych. Proszę wyjaśnić, jakie przesłanki eksperymentalne lub teoretyczne pozwoliły Autorce uznać, że uzyskane wyniki dotyczące stabilności warstw antifouling mogą być bezpośrednio przeniesione na inny materiał elektrody.
4. W rozprawie Autorka w sposób przejrzysty wskazuje elementy badań realizowane we współpracy lub wykonane przez inne osoby. Jednocześnie w obronach doktorskich opartych na cyklu publikacji standardem jest jednoznaczne określenie osobistego wkładu doktoranta w realizację poszczególnych etapów badań. Proszę zatem o doprecyzowanie, które części prac eksperymentalnych Autorka wykonała samodzielnie, w szczególności w odniesieniu do kluczowych wyników przedstawionych w rozprawie.

5. Wnioski końcowe

Przedłożona rozprawa doktorska podejmuje aktualną i istotną problematykę z zakresu chemii, inżynierii biomedycznej i elektrochemii analitycznej, koncentrując się na opracowaniu macierzy elektrodowej przeznaczonej do monitorowania parametrów metabolicznych w hodowlach komórkowych *in vitro*. Tematyka pracy ma charakter interdyscyplinarny i wpisuje się w aktualne kierunki rozwoju narzędzi badawczych stosowanych w biologii komórki, toksykologii oraz badaniach farmakologicznych.

Rozprawa prezentuje wysoki poziom merytoryczny w części technologicznej i elektrochemicznej. Autorka wykazała się umiejętnością projektowania i realizacji złożonych badań eksperymentalnych, obejmujących dobór materiałów elektrodowych, katalizatorów redukcji tlenu oraz analizę stabilności układów pomiarowych w środowisku biologicznym. Na

szczególne podkreślenie zasługuje systematyczne podejście do problemu foulingu oraz próba integracji pomiarów elektrochemicznych z badaniami biologicznymi.

Od strony formalnej rozprawa spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim, choć zastosowany modułowy układ treści oraz brak wyraźnej, przekrojowej syntezy wyników utrudniają ocenę stopnia realizacji celu głównego i hipotez badawczych. Uwagi te nie podważają jednak wartości uzyskanych wyników, lecz wskazują na obszary wymagające dalszego dopracowania i pogłębienia w przyszłych badaniach.

Podsumowując, rozprawa stanowi wartościowy wkład w rozwój elektrochemicznych metod monitorowania hodowli komórkowych i potwierdza, że Autorka posiada wiedzę, umiejętności oraz kompetencje niezbędne do samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Pomimo wskazanych ograniczeń, praca spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim w rozumieniu obowiązujących przepisów.

Stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska pt. **„Opracowanie elektrochemicznych macierzy czujnikowych do monitorowania hodowli komórkowych” mgr inż. Elżbiety Jarosińskiej spełnia wymagania** wynikające z Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024r., poz. 1571 ze zm.) oraz mieści się w dyscyplinie nauki chemiczne. Biorąc pod uwagę powyższe, stawiam wniosek o dopuszczenie rozprawy doktorskiej mgr inż. Elżbiety Jarosińskiej do publicznej obrony.

Warszawa, 02.01.2026

Katarzyna Gwoździak