Prof. dr hab. inż. Krzysztof Pielichowski
Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej
Politechnika Krakowska

Recenzja

w postępowaniu habilitacyjnym dr Małgorzaty Włodarczyk-Biegun
w oparciu o cykl publikacji powiązanych tematycznie stanowiących osiągnięcie naukowe pt. „Innowacyjne materiały na bazie hydrożeli do biodruku 3D i enkapsulacji komórek: otrzymywanie, charakteryzacja i biofabrykacja"

Podstawa opracowania recenzji: pismo nr RDIB.002.35.2022 z dnia 15.07.2022r. Przewodniczącego Rady Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna na Politechnice Śląskiej prof. dr hab. inż. Marka Gzika wraz z załącznikami.

Dr Małgorzata Włodarczyk-Biegun jest absolwentką Międzywydziałowej Szkoły Inżynierii Biomedycznej na Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie, gdzie w 2011r. uzyskała stopień magistra Inżynierii Biomedycznej. Wcześniej, w 2010r., otrzymała stopień magistra psychologii na Wydziale Filozoficznym Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. W 2016r. uzyskała stopień naukowy doktora na Wageningen University & Research (WUR), Holandia, na podstawie rozprawy zatytułowanej „Silky gels for cells. Silk-inspired protein-based polymers for use in tissue engineering", której promotorem był prof. M.A. Cohen Stuart. W latach 2016-2020 dr Włodarczyk-Biegun odbyła staż podoktorski w INM-Leibnitz Institute for New Materials w Saarbrucken, Niemcy, a od 2020 przebywa na stażu podoktorskim w Zernike Institute for Advanced Materials na University of Groningen w Holandii oraz – od 1.03.2021 - jest zatrudniona na stanowisku adiunkta w Centrum Biotechnologii Politechniki Śląskiej.

Ocena osiągnięcia naukowego

Na osiągnięcie naukowe Habilitantki pt. „Innowacyjne materiały na bazie hydrożeli do biodruku 3D i enkapsulacji komórek: otrzymywanie, charakteryzacja i biofabrykacja" składa się cykl siedmiu prac opublikowanych w czasopismach „Materials Science and Engineering C", „Bioprinting", „Polymers", „Biofabrication", „ACS Applied

Materials & Interfaces", „Biomaterials Science" i „Biomaterials" (praca przeglądowa). Wymienione czasopisma mają IF w zakresie 4,329 – 12,479. Dwie prace są dwuautorskie, a pozostałe mają pięciu autorów. Dr Włodarczyk-Biegun jest autorem korespondencyjnym w trzech pracach. Wkład dr Włodarczyk-Biegun jest, wg oświadczeń współautorów, znaczący, a w trzech pracach wiodący („lead"). Sumaryczny współczynnik Impact factor wynosi 112,880, przed uzyskaniem stopnia doktora: 47,045, po uzyskaniu stopnia doktora: 65,835, w tym publikacje stanowiące osiągnięcie habilitacyjne (H): 56,726. Sumaryczna punktacja ministerialna to 2300 pkt., przed uzyskaniem stopnia doktora: 1000, po uzyskaniu stopnia doktora: 1300, w tym publikacje stanowiące osiągnięcia habilitacyjne (H): 1060. Liczba wszystkich cytowań publikacji wnioskodawcy (bez autocytowań) wynosi 419 (382), przed uzyskaniem stopnia doktora (przed 2016): 246 (231), po uzyskaniu stopnia doktora (2016 i później): 173 (151), w tym publikacje stanowiące osiągnięcie habilitacyjne (H): 151 (145). Wartość indeksu Hirscha wynosi 11. Wartości parametrów naukometrycznych są na dobrym poziomie dla dyscypliny „Inżynieria biomedyczna" i świadczą o zainteresowaniu pracami dr Włodarczyk-Biegun w środowisku naukowym.
Kandydatka jest współautorką 22 publikacji naukowych, w tym w uznanych czasopismach naukowych „Materials Science and Engineering C", „Bioprinting", „Biofabrication", „ACS Applied Materials & Interfaces", „Acta Biomaterialia", „Biomacromolecules" i „Biomaterials".

Ogólnie, dalszy rozwój medycyny regeneracyjnej i inżynierii tkankowej wymaga odpowiednich narzędzi w postaci nowych metod syntezy i przetwarzania biomateriałów. Jedną z obiecujących i intensywnie rozwijanych metod jest (bio)druk 3D, stosowany do wytwarzania rusztowań komórkowych o kontrolowanym rozkładzie przestrzennym komponentów, w tym żywych komórek, w celu naśladowania struktur tkanek żywych i narządów, oraz odtwarzania ich funkcji. Wśród biomateriałów, dużą uwagę badaczy przyciągają – z uwagi na swe korzystne właściwości oraz szerokie możliwości modyfikacji – hydrożele. W tym kontekście wybór tematyki osiągnięcia naukowego Habilitantki w zakresie otrzymywania, charakteryzowania i biofabrykacji materiałów hydrożelowych do biodruku 3D i enkapsulacji komórek wydaje się w pełni uzasadniony w kontekście aktualnych trendów rozwoju spersonalizowanych implantów oraz modeli tkanek, umożliwiających stopniowe eliminowania eksperymentów medycznych prowadzonych na zwierzętach.

Dr Małgorzata Włodarczyk-Biegun sformułowała główne cele badawcze, obejmujące (i) identyfikację i scharakteryzowanie materiałów do druku 3D w oparciu o hydrożele, w szczególności naturalnych białek, (ii) opracowanie nowych układów do hodowli komórkowych 3D oraz biodrukowania, umożliwiających poprawę precyzji biofabrykacji oraz odpowiedzi komórkowej, (iii) opracowanie drukowalnych klejów zapewniającymi dobrą adhezję pomiędzy kolejnymi warstwami do klejenia tkanek oraz tuszy przyspieszających gojenie się ran, (iv) opracowanie nowych protokołów charakteryzowania materiałów drukowalnych, oraz (v) opracowanie i optymalizację nowego narzędzia do drukowania materiałów reaktywnych w oparciu o hydrożele.

W celu realizacji tak zdefiniowanych celów badawczych Habilitantka uczestniczyła w pracach mających na celu opracowanie sposobu drukowania tuszów w oparciu o alginian do kąpieli zawierającej chitozan i chlorek wapnia. Uzyskane metodą cryo-SEM obrazy wskazują na otrzymanie dobrze zdefiniowanych struktur przy zmniejszonej tendencji do łączenia się i deformowania poszczególnych warstw. Z uwagi na relatywnie słabe właściwości mechaniczne oraz małą adhezję komórkową tuszów alginianowych, w toku dalszych badań dr Włodarczyk-Biegun uczestniczyła w wytworzeniu i scharakteryzowaniu tuszu utwardzanego promieniowaniem UV i na drodze sieciowania jonowego, opartego na mieszaninie chitozanu i żelatyny, z wykorzystaniem fitynianu glicerolu jako środka sieciującego jonowo. Po dobraniu odpowiedniego dla korzystnego wzrostu komórek składu mieszaniny polimerów stwierdzono występowanie efektu synergii, stosując jako kryterium zdolność do druku 3D („drukowalność"). Opracowano także warunki drukowania z wybranym tuszem chitozanowo/żelatynowym z wykorzystaniem fotopolimeryzacji UV w trakcie wydruku oraz sieciowanie jonowe po zakończeniu drukowania. Otrzymane wielowarstwowe rusztowania wykazywały stabilność mechaniczną w obecności płynów fizjologicznych przez okres przynajmniej jednego miesiąca, a wyniki badań właściwości biologicznych przy zastosowaniu fibroblastów L929 świadczą o korzystnej proliferacji komórek. Z uwagi na fakt, że dla obu dotychczas opracowanych układów wysiew komórek zachodzi po wydruku materiałów, w następnym etapie badań Habilitantka podjęła i zrealizowała działania na rzecz wytworzenia i scharakteryzowania biotuszu – materiału drukowalnego z żywymi komórkami. W celu zwiększenia żywotności i wzrostu komórek, na które to parametry może niekorzystnie wpływać stosowane do tej pory m.in. wprowadzanie środków zagęszczających, został zaproponowany przez zespół badawczy, w skład którego wchodziła dr Włodarczyk-Biegun, druk

ekstruzyjny reaktywnego hydrożelu chitozan/kwas hialuronowy, także modyfikowanego pochodnymi katecholu, wykazującymi właściwości przeciwutleniające i przeciwzapalne. Opracowane biotusze oraz sposób ich drukowania umożliwia biofabrykację stabilnych mechanicznie rusztowań zawierających komórki oraz nośników umożliwiających przedłużone uwalnianie leków. Przedmiotem badań Kandydatki były również drukowalne kleje tkankowe wytwarzane w oparciu o poli(glikol etylenowy) (PEG) funkcjonalizowany dopaminą i zawierający katechol oraz wybrane jony metali trójwartościowych jako czynnik sieciujący. Tak zaprojektowany układ można drukować bez konieczności stosowania kąpieli pomocniczej i regulatorów lepkości. Przeprowadzone przez dr Włodarczyk-Biegun badania reologiczne hydrożeli wskazują na istotną rolę zastosowanego kompleksu koordynacyjnego w odniesieniu do wartości modułu zachowawczego G' i modułu stratności G''. Sporządzone charakterystyki reologiczne posłużyły do doboru parametrów druku w celu zapewnienia jak najlepszej precyzji druku, skutkującej odpowiednią jakością wytwarzanych elementów. Określono również związki między reologią a właściwościami termodynamicznymi i kinetycznymi wiązania metal-katechol. Ponieważ odwracalny charakter sieciowania metal-ligand powodował niewystarczającą trwałość drukowanych struktur, zastosowano sieciowanie kowalencyjne w warunkach utleniających, co pozwoliło na utrwalenie drukowanego kształtu biokompatybilnych struktur trójwymiarowych przeznaczonych do hodowli komórkowej. Kontynuując tematykę modyfikacji materiałów w oparciu o PEG w celu poprawy warunków hodowli komórek, Habilitantka uczestniczyła w pracach związanych z syntezą hydrożeli na drodze reakcji sprzęgania grup tiolowych z grupami metylosulfonylowymi oraz badaniami kinetyki procesu sieciowania. Otrzymane wyniki wskazują na kluczową rolę pH środowiska reakcji, którego odpowiedni dobór powoduje takie spowolnienie procesu żelowania, aby możliwe było enkapsulowanie komórek. Badania biokompatybilności otrzymanych hydrożeli wskazują, że stanowią one użyteczne materiały do immobilizowania komórek, a mniejsza gęstość usieciowania i szybsza degradacja sieci hydrożelowej sprzyjają migracji komórek na większe odległości. Dr Włodarczyk-Biegun znaczną uwagę poświęciła kwestii standaryzowania sposobów analizy struktury i pomiarów właściwości tuszów do biodruku i układów przeznaczonych do enkapsulowania komórek. Ponieważ obszar tematyczny biofabrykacji jest stosunkowo nowy, takie działanie winno przyczynić się do dalszego systematycznego jego rozwoju. Stosowane narzędzia badawcze – badania reologiczne oraz morfologiczne przy

zastosowaniu metody SEM, pozwoliły na określenie czasu relaksacji i czasu samonaprawy jako kluczowych parametrów warunkujących zdolność do druku materiałów o określonej jakości, w których występują wiązania odwracalne. Co ważne, cechy reologiczne układu wywierają wpływ na rozmieszczenie komórek oraz ich zachowania, takie jak migracja. Charakterystyka morfologiczna rusztowań hydrożelowych drukowanych metodą 3D umożliwia kontrolę ich rozmiarów, kształtu i tekstury powierzchni. Z uwagi na zawartość wody w tuszach hydrożelowych, stosowanie klasycznej techniki SEM jest bardzo utrudnione - rozwiązaniem zaproponowanym w zespole, którego członkiem była Habilitantka, jest opracowanie metodyki pomiarów metodą cryo-SEM przy zastosowaniu oryginalnie zaprojektowanego uchwytu w celu wiernej wizualizacji rusztowań w różnych przekrojach.

Podsumowując ocenę osiągnięcia naukowego dr Małgorzaty Włodarczyk-Biegun pt. „Innowacyjne materiały na bazie hydrożeli do biodruku 3D i enkapsulacji komórek: otrzymywanie, charakteryzacja i biofabrykacja", stanowi ono znaczny wkład w rozwój dyscypliny Inżynieria biomedyczna. Kompleksowe i interdyscyplinarne podejście do zagadnień związanych z wytwarzaniem i oceną właściwości oraz biofabrykacją materiałów w oparciu o hydrożele pozwoliło Habilitantce na otrzymanie poprawnie omówionych i spójnie przedstawionych wyników o charakterze poznawczym oraz aplikacyjnym.

Ocena istotnej aktywności naukowej

Dr Małgorzata Włodarczyk-Biegun powadzi interdyscyplinarne badania naukowe w zakresie biodruku i wytwarzania trójwymiarowych rusztowań z materiałów polimerowych do regeneracji tkanek, jak również projektowania i otrzymywania nowych materiałów hydrożelowych do drukowania 3D i enkapsulacji komórek. Opracowała drukowalne polimerowe kleje tkankowe o właściwościach adhezyjnych, także w obecności krwi, wykazujące zdolność do tworzenia rusztowań i wypełniania ubytków. Wniosła wkład w rozwój procesu ekstruzji układów dwuskładnikowych poprzez opracowanie sposobu mieszania ciągłego podczas druku. Współopracowała metodykę preparacji i obrazowania materiałów hydrożelowych metodą SEM. W ramach stażu podoktorskiego w INM-Leibniz Institute for New Materials w Saarbruecken wchodziła w skład multidyscyplinarnego konsorcjum, które

zajmowało się opracowywaniem nowych technik hodowli mezenchymalnych komórek macierzystych. Współpracuje z Uniwersyteckim Szpitalem Medycznym w Groningen oraz Laboratorium Analitycznym INM-Leibniz Institute for New Materials.

Ocena istotnej aktywności naukowej dr Małgorzaty Włodarczyk-Biegun jest w pozytywna.

Ocena działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzującej naukę

Dr Małgorzata Włodarczyk-Biegun, z uwagi na zatrudnienie w instytucie badawczym (INM), nie wykazuje znacznego dorobku dydaktycznego. Była / jest opiekunem doktorantów, magistrantów, studentów studiów licencjackich oraz innych naukowców ze stopniem doktora. Opracowała i prowadziła zajęcia laboratoryjne oraz wykłady z przedmiotu "Biopolymers" oraz przedmiotu „Soft Matter" (zajęcia praktyczne z reologii). W ramach działalności organizacyjnej, w ramach konferencji TERMIS-EU w Krakowie (2002r.) zorganizowała Sympozjum "Novel strategies to assess cellular response to biomaterials" oraz uczestniczyła w organizacji VII Krajowej Konferencji "Modelowanie Cybernetyczne Systemów Biologicznych", Kraków, 2010r. Zorganizowała laboratoria biodruku 3D w INM i na Politechnice Śląskiej. Uzyskała dofinansowanie szeregu projektów badawczych, m.in. NCN Opus, NAWA Polskie Powroty i Veni NWO oraz nagrodę L'Oreal-UNESCO for Women in Science. Pełni rolę eksperta Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, była recenzentem dwóch prac doktorskich (zagranicą) oraz recenzowała prace złożone do uznanych czasopism naukowych, takich jak „Biofabrication", „Acta Biomaterialia" i „International Journal of Pharmaceutics". Czynnie uczestniczy w działalności na rzecz popularyzowania nauki – była gościem programu „Future Insight", opulikowała w czasopiśmie „Zwierciadło" artykuł popularnonaukowy, a Jej osiągnięcia były opisywane w serwisie „PAP-Nauka w Polsce" i „WUR News". Ocena działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzującej naukę dr Małgorzaty Włodarczyk-Biegun jest w pozytywna.

Ocena działalności zawodowej dr Małgorzaty Włodarczyk-Biegun w zakresie działalności naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej jest pozytywna. Zawarte w przedstawionym jako osiągnięcie naukowe cyklu publikacji pt. „Innowacyjne materiały na bazie hydrożeli do biodruku 3D i enkapsulacji komórek: otrzymywanie,

charakteryzacja i biofabrykacja" wyniki dotyczące wytwarzania, oceny struktury i właściwości oraz biofabrykacji materiałów hydrożelowych stanowią oryginalny i znaczny wkład w rozwój inżynierii biomedycznej. Kandydatka m.in. opracowała nowe układy do hodowli komórkowych 3D oraz biodrukowania, umożliwiające poprawę precyzji biofabrykacji oraz odpowiedzi komórkowej, jak również opracowała drukowalne kleje zapewniające dobrą adhezję pomiędzy kolejnymi warstwami do klejenia tkanek oraz tusze przyspieszające gojenie się ran. Dr Małgorzata Włodarczyk-Biegun jest współautorką szeregu publikacji naukowych w uznanych czasopismach oraz aktywnie uczestniczy w krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Osiągnięcia naukowe Habilitantki odpowiadają wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce - wnoszę zatem do Komisji Habilitacyjnej o pozytywne rozpatrzenie i dalsze procedowanie wniosku o nadanie dr Małgorzacie Włodarczyk-Biegun stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych.

Podpisał recenzent parafką
(podpis odręczny)

Kraków, 22.09.2022r.