



Łódź, 5 czerwca 2024 r.

Ocena osiągnięcia naukowego zatytułowanego:

„Synteza materiałów biopolimerowych o regulowanym składzie, morfologii
i właściwościach fizykochemicznych
wspomagana technikami mikroprzepływowymi”

**oraz aktywności naukowej dr Macro Costantini ubiegającego się o nadanie
stopnia doktora habilitowanego**

Przedmiotem niniejszej recenzji jest dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny Pana Dr Macro Costantini. Podstawą sporządzenia recenzji była uchwała Rady Naukowej Instytutu Chemii Fizycznej (IChF) Polskiej Akademii Nauk w Warszawie powołująca mnie na recenzenta w postępowaniu habilitacyjnym Pana Dr Macro Costantini, o której zostałem poinformowany w piśmie od IChF z dnia 25 marca 2024.

Pan dr Macro Costantini jest absolwentem Uniwersytetu La Sapienza w Rzymie, w którym obronił pracę magisterską w roku 2011. Pracę doktorską realizował również na Uniwersytecie La Sapienza w Rzymie pod opieką promotorską prof. Mariella Dentini. Praca zatytułowana „Wysoce uporządkowane i monodispersyjne biomateriały porowate stosowane w inżynierii tkankowej” została obroniona w roku 2015. Ponadto, Dr Costantini uzyskał również tytuł profesora nadzwyczajnego w zakresie podstaw chemii w technologiach stosowanych, Ministerstwo Szkolnictwa Wyższego i Badań Naukowych, Włochy. Nie znalazłem informacji o formie zatrudnienia we wniosku, ale pomijając staże w 2013 i 2014 roku, można wywnioskować że Pan dr Costantini rozpoczął pracę w IChF PAN w Warszawie w 2019 roku, w ramach uzyskanego grantu NCN-POLONEZ 3. Od stycznia 2022 roku jest kierownikiem zespołu badawczego „Wytwarzanie cyfrowe systemów biomimetycznych” w IChF PAN. W tym czasie wykazał się niezwykle efektywnym poziomem pozyskiwania środków badawczych z Narodowego Centrum Nauki (OPUS, SONATA BIS, SONATA). Ponadto, w latach 2013-2019 odbył kilka staży w bardzo dobrych ośrodkach naukowych we Włoszech, Polsce, Japonii oraz Niemczech.

Ocena osiągnięcia naukowego habilitanta

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe dr Macro Costantini obejmuje 10 monotematycznych publikacji naukowych z lat 2015-2023 i dotyczy zagadnień związanych głównie z materiałami biopolimerowymi otrzymywanymi za pomocą biodruku 3D wspomaganego mikroprzepływami, z ukierunkowaniem na szeroko rozumiane zastosowania biomedyczne. Co warto podkreślić, w znakomitej większości publikacji habilitant jest pierwszym lub korespondencyjnym autorem. Ma to również odzwierciedlenie w opisie udziału habilitanta w tych pracach, pomimo że przeważają publikacje o dużej liczbie współautorów. W pracach z przedstawionego cyklu udział habilitanta polegał na zaplanowaniu koncepcji badań, opracowaniu odpowiednich urządzeń mikroprzepływowych/druku 3D, ich testowaniu oraz

otrzymywaniu materiałów biopolimerowych, a następnie interpretacji i opisywaniu uzyskanych wyników. Warty podkreślenia jest fakt, że na wykonywanie większości z tych badań habilitant uzyskał finansowanie z NCN, ale również był opiekunem grantu NCN-Preludium, dr Nehar Celikkin. Świadczy to o wysokiej dojrzałości naukowej, samodzielności habilitanta oraz o jego umiejętnościach opieki nad młodymi adeptami pracy naukowej.

Zagadnienia badawcze przedstawione w autoreferacie koncentrują się wokół projektowania i otrzymywania materiałów biopolimerowych o regulowanej morfologii i składzie chemicznym za pomocą techniki biodruku 3D wspomaganego mikroprzepływami. Otrzymano m.in. porowate pianki i mikrocząstki, hydrożele do regeneracji kostnej, czy włókna hydrożelowe. Szczególnie nowatorski był sposób otrzymania porowatych materiałów o ciągłym gradiencie wielkości porów za pomocą relatywnie prostej techniki (Costantini et al. *Angewandte* 2019, 58, 7620-7625). Ze względu na biokompatybilność użytych matryc naturalnym zastosowaniem otrzymywanych przez habilitanta materiałów była ich implementacja w medycynie i właśnie to ambitne zagadnienie badawcze habilitant opisuje w swoich 10 publikacjach stanowiących osiągnięcie. Publikacja P1 i P2 opisują otrzymywanie porowatych rusztowań do wzrostu komórek za pomocą mikroprzepływowego urządzenia spieniającego skupiającego przepływ, a następnie porównanie ich z materiałami otrzymywanymi konwencjonalnymi metodami. Bardziej regularna porowata struktura próbki mikroprzepływowej wykazywała wyższy moduł Younga w porównaniu do materiałów przygotowanych w tradycyjny sposób. Z kolei w pracy P3, wytworzono porowate mikrocząstki alginianowe w urządzeniu mikroprzepływowym, których wielkość i porowatość kontrolowano poprzez modulację amplitudy i częstotliwości impulsów elektrycznych. Po starannym oczyszczeniu i pokryciu innym biopolimerem tego typu cząstki można wykorzystać jako nośniki komórek (hMSCs oraz HepaRG). Następnie habilitant zaproponował połączenie spieniania mikroprzepływowego i platformy do druku 3D do otrzymania materiału porowatego z

żelatyny o kontrolowanej wielkości porów (publikacja P5). Zastosowanie prostej zmiany uruchamianiem zaworu (czas trwania, częstotliwość i amplitudę) pozwoliło na otrzymanie szeregu materiałów, z których najciekawsze wydają się stopniowane materiały polimerowe o kontrolowanym rozmiarze porów. Dodatkowo, do tego typu materiałów dodano nano-hidroksyapatyt, co umożliwia zastosowanie ich jako rusztowania do regeneracji kostnej. W publikacji P6 habilitant umiejętnie zastosował tusz emulsyjny z fotoutwardzalnej pochodnej dekstranu, który można osadzić w gęstej zawieszynie złożonej z mikrocząsteczek agarozy. Następnie wykorzystał te tusze do drukowania skomplikowanych układów trójwymiarowych. Poprzez zastosowanie znakowania fluorescencyjnego udało się uzyskać informacje o lokalnej gęstości próbki oraz zidentyfikować dwa różne biopolimery, które użyto do wydrukowania struktur 3D w kolejnym etapie badań. Z kolei w publikacji P7 habilitant opracował mikroprzepływową głowicę do wytłaczania biotuszu z alginianu sodu (dysza wewnętrzna) sieciowanego roztworem chlorku wapnia (dysza zewnętrzna). Dodatkowo do układu dodawał również żelatynę, siarczanem chondroityny oraz kwas hialuronowy w celu otrzymania materiałów zdolnych do regeneracji chrząstki. Wyniki badań pokazały niezwykłą precyzję otrzymywanych trójwymiarowych struktur, a także możliwość osadzania na nich ludzkich mezenchymalnych komórek macierzystych. Habilitant kontynuował te badania i w pracy P8 zaprojektował chip Y połączony z dyszą współosiową pozwalający na wykorzystanie bardziej złożonych biotuszy. Połączenie PEG-fibrynogenu z alginianem pozwoliło na uzyskanie biotuszu o pożądanym właściwościach reologicznych i wytworzenie włókien hydrożelowych imitującą strukturę tkanek mięśni szkieletowych. W ich strukturze zamknięto komórki C2C12 (linia komórkowa mysich mioblastów), aby udowodnić ich zdolność do wspierania miogenezy i sarkomerogenezy. Szczególnie istotna była ich właściwość do degradacji, co umożliwiało ich stopniowe zastępowanie przez włókna mięśniowe. W pracy P9 habilitant kontynuował to podejście do

otrzymywania zaawansowanych materiałów złożonych do regeneracji kostnej. W tej pracy oprócz matrycy biopolimerowej do układu dodawano mikrocząstkami fosforanu trójwapniowego oraz ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste/ludzkie chondrocyty. W modelu *in vivo* zastosowanie otrzymanych materiałów powodowało skuteczną regenerację rowków bloczkowych. Z kolei w pracy P10 habilitant zaprojektował wysokowydajną biodrukarke rotacyjną wykorzystującą przędzenie na mokro w celu otrzymania włókien o wielkości mikrometrowej, które organizowałyby się w pożądaną strukturę zaraz po wytłaczaniu. Zamknął wewnątrz nich komórki progenitorowe mięśni szkieletowych i wykazał, że stosując różne typy stymulacji, można sterować ekspresją kluczowych białek markerowych. W jedynej pracy przeglądowej (P4) habilitant podsumował zastosowanie tuszy emulsyjnych i piankowych do otrzymywania różnego rodzaju trójwymiarowych struktur.

Analizując przedstawiony cykl prac, można zaobserwować systematyczność prowadzonych badań, umiejętność projektowania skomplikowanych urządzeń mikroprzepływowych w połączeniu z drukowaniem trójwymiarowym oraz zdolność do konstruowania skomplikowanych strukturach materiałów biopolimerowych, w których można z łatwością zamknąć wiele rodzajów komórek. Habilitant, przede wszystkim, potrafił wykazać, że zaprojektowane przez niego materiały mają bardzo wysoki potencjał aplikacyjny. Można stwierdzić, że Dr Costantini poszerzył zakres stosowanych urządzeń do konstrukcji materiałów biopolimerowych i jego badania są na najwyższym światowym poziomie.

Przedstawione we wniosku publikacje zostały opublikowane w bardzo dobrych i topowych czasopismach naukowych (np. *Angewandte Chemie*, *Advanced Functional Materials*, *Biomaterials*) i są one świetnie cytowane. Znaczenie prac habilitanta dla rozwoju materiałów biopolimerowych, z zastosowaniem techniki mikroprzepływów i druku 3D, oceniam bardzo wysoko. Bezsprzecznie, prace przedstawione w ramach osiągnięcia habilitacyjnego świadczą

także o dużej samodzielności badawczej habilitanta i można stwierdzić że jest on wybitnym specjalistą w swojej dziedzinie.

Pozostała działalność naukowo-badawcza

Można zauważyć, że dynamika pracy naukowej habilitanta jest bardzo dobra (od roku 2015 średnio publikuje około 7 prac rocznie), co jest również związane z rozwijaną współpracą zagraniczną i krajową, ale także z pozyskiwaniem finansowania z agencji grantowych. Był on kierownikiem projektu Sonata, Sonata BIS, Opus, Polonez BIS, ale także opiekunem grantu młodego naukowca (Preludium). Jego indeks Hirscha wynosi 31, a łączna liczba cytowani 3694 (według bazy Scopus) i są to parametry niezwykle imponujące na tym etapie kariery naukowej. Habilitant pełnił funkcję recenzenta w wielu czasopismach naukowych, ale także recenzował granty dla wielu agencji w całej Europie. Jest też członkiem rad redakcyjnych dwóch czasopism (Biomicrofluidics, Journal of Functional Biomaterials).

Oprócz 10 publikacji przedstawionych we wniosku, jako tych stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego w przewodzie habilitacyjnym, Pan dr Macro Costantini podaje dodatkowo 38 współautorskich innych prac wydanych w czasopismach naukowych z listy JCR, po uzyskaniu doktoratu. Wśród czasopism, w których publikuje habilitant znajdują się także, oprócz wspomnianych wyżej, bardzo dobre czasopisma w dziedzinie zaawansowanych materiałów, takie jak Advanced Materials, Small, Adv. Healthc. Mater, Materials Science and Engineering: C. Habilitant prezentował wyniki swoich prac w postaci wykładów plenarnych, komunikatów ustnych i posterów na ok. 22 konferencjach krajowych i międzynarodowych, w tym kilkakrotnie na zaproszenie organizatorów, co wskazuje na odpowiednią aktywność w tym zakresie i rosnącą rozpoznawalność w świecie naukowym. Zostało to docenione poprzez liczne nagrody, które dr Costantini uzyskał, zarówno w kraju, jak i za granicą. Jedną z tych nagród było Stypendium dla wybitnych młodych naukowców Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Habilitant współorganizował warsztaty i sympozja w ramach konferencji międzynarodowych. Na uwagę zasługuje szczególnie jego zaangażowanie w komercjalizację wyników badań własnych, a jedno z zaproponowanych przez niego rozwiązań znalazło zastosowanie w praktyce klinicznej (nazwa handlowa produktu to CytoMatrix). Dodatkowo, opracowywał układy do biodruku 3D i mikroprzepływów na zamówienie instytucji badawczych w Polsce i za granicą. Jego działalność dydaktyczna jest również dobra, pomimo zatrudnienia w jednostce badawczej. Był on opiekunem pomocniczym w trzech przewodach doktorskich i promotorem prac magisterskich oraz opiekował się on kilkoma stażystami. Zadowolające są także osiągnięcia na polu popularyzacji nauki. Można podsumować, że jest to kandydatura kompletna pod każdym względem.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe Pana dr Macro Costantini stanowi bardzo istotny wkład w rozwój biodruku 3D wspomaganego mikroprzepływami oraz że wykazał się on istotną aktywnością naukową realizowaną w kilku polskich i zagranicznych instytucjach naukowych. Tym samym spełnia on wymogi stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora habilitowanego zgodnie z wymaganiami zawartymi w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. (art. 219 ust. 1 pkt 1-3), Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. W związku z tym wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Chemii Fizycznej, Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Pana dr Macro Costantini do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

dr hab. inż. Marek Brzeziński, prof. CBMiM PAN
Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych
Polskiej Akademii Nauk