



UNIwersytet  
OPOLSKI

SAMODZIELNA KATEDRA  
BIOTECHNOLOGII I BIOLOGII MOLEKULARNEJ

ul. Kominka 6, 6a ; 45-032 Opole  
tel. +48 77 401 60 50  
fax. +48 77 401 60 51  
biotechnologia@uni.opole.pl

Prof. dr hab. Czesław Ługowski

Opole, 17. 11. 2014 r.

### Ocena

**osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę habilitacji,  
dorobku naukowego, dydaktycznego i popularyzatorskiego  
w postępowaniu habilitacyjnym  
dr Krzysztofa Marycza**

Krzysztof Marycz ukończył studia na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Akademii Rolniczej we Wrocławiu w roku 2005, uzyskując dyplom magistra biologii stosowanej i został zatrudniony na etacie specjalisty w Pracowni Mikroskopii Elektronowej, na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Pracę doktorską pod tytułem: „Zmiany morfologiczne oraz ultrastrukturalne wątroby zółwia czerwonołicznego (*Trachemys scripta elegans*)” obronił na Wydziale Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego w roku 2008 i uzyskał stopień doktora nauk biologicznych. Promotorem pracy doktorskiej był prof. dr hab. Grzegorz Gabryś. Obecnie Habilitant jest kierownikiem Pracowni Mikroskopii Elektronowej i pracuje jako adiunkt w Katedrze Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Głównym przedmiotem zainteresowań naukowych dr Krzysztofa Marycza są mezenchymalne komórki macierzyste wykorzystywane w medycynie regeneracyjnej.

### Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę habilitacji

Przedmiotem oceny jest osiągnięcie naukowe zatytułowane "Ocena potencjału regeneracyjnego ASCs (Adipose stem cells) oraz badanie ich interakcji z wybranymi materiałami implantacyjnymi" zawarte w cyklu sześciu publikacji. Dr Krzysztof Marycz

wskazał je, zgodnie z *Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki* jako osiągnięcie naukowe stanowiące znaczny wkład autora w rozwój określonej dyscypliny naukowej.

Oryginalne prace doświadczalne zostały opublikowane w języku angielskim w międzynarodowych recenzowanych czasopismach: *Biomedical Materials*, *Bio-Medical Materials and Engineering*, *Journal of Biomedical Materials Research*, *Acta Veterinaria Hungarica*, *Veterinaria Medicina i Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. Sumaryczna wartość współczynników wpływu przedstawionych prac (IF) wynosi 8,376, a MNiSW – 180.

W wybranych pracach przedstawiono wyniki doświadczeń przeprowadzonych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk biologicznych, stanowią one logiczną kontynuację uprzednio prowadzonych badań. We wszystkich publikacjach Habilitant jest pierwszym autorem, w tym w jednej pracy, autorem korespondencyjnym. W pięciu pracach zaliczonych do osiągnięcia naukowego dr. Krzysztofa Marycza jego udział wynosi od 60% do 70%, w jednej pracy 50%. Fakty te wskazują na wiodący udział Habilitanta we wszystkich etapach powstawania artykułów, zarówno w koncepcji badań, wykonaniu doświadczeń, interpretacji wyników i przygotowaniu pracy do druku.

Obiektem badań Habilitanta są występujące w dojrzałych tkankach, zdolne do samoodnowy, mezenchymalne komórki macierzyste (MSCs). Komórki mezenchymalne wykazują zdolność do różnicowania się w komórki innych tkanek, co umożliwia ich regenerację. Wysoki potencjał proliferacyjny komórek MSCs pozwala na znaczne zwiększenie ich liczby w hodowli *in vitro*. Umożliwia to uzyskanie dużej populacji komórek wymaganej w praktyce klinicznej, gdzie najchętniej wykorzystywane są komórki mezenchymalne pochodzące z podskórnej tkanki tłuszczowej (ASCs). Łatwość pozyskiwania komórek ASCs oraz ich wysoki potencjał transformacyjny w osteoblasty i chondrocyty (komórki tkanki kostnej i chrzęstnej) powoduje, że można je z powodzeniem wykorzystywać do regeneracji uszkodzonych narządów. Zainteresowania naukowe Habilitanta dotyczą głównie tego nurtu badań.

Przedstawiony cykl prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego obejmuje trzy zadania badawcze. Pierwszym z nich było określenie wpływu przeciwzapalnych leków sterydowych i niesterydowych na właściwości cytofizjologiczne i zdolność do proliferacji komórek ASCs otrzymywanych z tkanki tłuszczowej konia i psa. Badania te umożliwiły opracowanie warunków stymulacji

komórek ACS w celu zwiększenia ich aktywności cytofizjologicznej. Dostarczyło to cennych informacji użytecznych dla lekarzy weterynarii, wykorzystujących komórki macierzyste w medycynie regeneracyjnej. Przedstawiono je w dwu publikacjach, w *Acta Veterinaria Hungarica* i *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*.

Kolejnym zadaniem badawczym zrealizowanym przez dr Krzysztofa Marycza było określenie wpływu materiałów biodegradowalnych, metalicznych i funkcjonalizowanych na komórki macierzyste ASCs wykorzystane w procesie regeneracji układu kostnego wybranych gatunków zwierząt. W pierwszej z trzech publikacji opisujących wyniki uzyskane podczas realizacji tego zadania, podjęto próbę zespolenia kostnego złamania kości kopytowej konia z zastosowaniem stali austenitycznej pokrytej warstwą fibryny, w której zawieszono komórki macierzyste. Uzyskane pozytywne wyniki – całkowity powrót sprawności fizycznej konia po 9. miesiącach od zabiegu (opublikowane w *Veterinarni Medicina*) zachęciły Habilitanta do rozwijania technik inżynierii biomateriałowej z wykorzystaniem materiałów implantacyjnych z biofilmami zawierającymi komórki macierzyste. W kolejnej publikacji zaliczonej do osiągnięcia naukowego (*Journal of Biomedical Materials Research*) Habilitant przedstawił wyniki badań modyfikacji powierzchni dostępnych komercyjnie materiałów metalicznych przez pokrywanie ich powłokami tlenkowymi dla uzyskania optymalnych właściwości dla propagacji komórek macierzystych. Wykazano, że najkorzystniejsze właściwości posiada powłoka z ditlenku tytanu. Komórki ASC hodowane na materiałach pokrytych  $TiO_2$  utrzymywały prawidłową morfologię i duże tempo proliferacji tworząc rozbudowaną, aktywną monowarstwę typu ACL.

Dane literaturowe dotyczące pozytywnego wpływu kwasu L-askorbinowego na aktywność, tempo proliferacji i opóźnienie procesu starzenia mezenchymalnych komórek macierzystych, skłoniły dr Krzysztofa Marycza do wykorzystania tego przeciwutleniacza do modyfikowania opisanych w poprzednim zadaniu powłok  $SiO_2$  i  $TiO_2$ . Badania biologiczne takich powłok prowadzono wykorzystując komórki macierzyste otrzymane zarówno z tkanki tłuszczowej jak i szpiku kostnego (BM-MSCs). Pożądany efekt biologiczny, tj. najwyższe tempo proliferacji i prawidłowa morfologia komórek hodowanych uzyskano na powłoce modyfikowanej krzemionki niezależnie od pochodzenia komórek i rodzaju podłoża metalicznego (wyniki opublikowano w *Biomedical Materials*).

W ostatniej pracy stanowiącej część osiągnięcia naukowego Habilitant przedstawia wyniki badań nad optymalizacją sposobu podawania komórek MSCs do uszkodzonych tkanek. Odpowiednia droga dostarczania komórek może decydować o sukcesie terapii regeneracyjnej. Autor zaprojektował hydrożele alginianowe wzbogacone 10% dodatkiem fibryny jako nośniki komórek mezenchymalnych i wykazał ich pozytywny wpływ na propagowane w nich MSCs. Stwierdzono stymulację komórek do adhezji i proliferacji, przy zachowaniu fenotypu antygenów CD44 i CD105. Wyniki pracy opublikowano w *Bio-Medical Materials and Engineering*.

Za najważniejsze wyniki prac stanowiących osiągnięcie naukowe Habilitanta należy uznać opracowanie precyzyjnych metod modyfikacji i funkcjonalizacji powierzchni implantów metalicznych, umożliwiających optymalną adhezję i proliferację zawieszonych na bioaktywnej macierzy mezenchymalnych komórek macierzystych o wysokim potencjale regeneracyjnym. Są to ważne osiągnięcia rozszerzające naszą wiedzę o potencjale regeneracyjnym mezenchymalnych komórek macierzystych wykorzystywanych w medycynie weterynaryjnej. Wyniki badań mają duże znaczenie praktyczne. Wykazano na modelu zwierzęcym, że opracowane metody mogą być stosowane z powodzeniem w leczeniu złamania kości kopytowej konia. Wykorzystanie aktywnego biofilmu komórek macierzystych na modyfikowanym materiale metalicznym usprawniło regenerację tkanki kostnej. Wynikiem leczenia było uzyskanie całkowitej sprawności ruchowej konia w 9. miesiącu po zabiegu.

Warto podkreślić, że pięć z sześciu prac stanowiących osiągnięcie naukowe zostało opublikowane w roku 2014. Świadczy to o wyjątkowej aktywności naukowej Habilitanta w ostatnim okresie. O wysokim poziomie naukowym artykułów wchodzących w skład osiągnięcia naukowego świadczy także ranga czasopism w których były publikowane. Prace uzyskały pozytywną ocenę u recenzentów – ekspertów reprezentowanej przez dr Krzysztofa Marycza dziedzinie.

### **Ocena pozostałego dorobku naukowego**

Dorobek naukowy Dr Krzysztofa Marycza, nie wchodzący w skład „osiągnięcia naukowego” obejmuje współautorstwo w 31. pracach oryginalnych w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports o sumarycznym IF = 25,315, wszystkie prace zostały opublikowane po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Habilitant jest autorem lub współautorem 7. prac spoza bazy Journal Citation

Reports, 7. wygłoszonych referatów na krajowych i międzynarodowych konferencjach aktywny udział w 8. zjazdach naukowych.

W okresie przed doktoratem, dr Krzysztof Marycz badał zmiany morfologiczne i ultrastrukturalne komórek wątroby żółwia w różnych stanach fizjologicznych. Wyniki tych badań były podstawą pracy doktorskiej obronionej w roku 2008.

Po uzyskaniu stopnia doktora, dr Krzysztof Marycz prowadził badania nad zastosowaniem komórek ASC do regeneracji układu mięśniowo-szkieletowego zwierząt przy wykorzystaniu biodegradowalnych implantów. Drugim nurtem badań była ocena fizykochemiczna modyfikowanych i funkcjonalizowanych materiałów biomedycznych stosowanych jako implanty i ich wpływ na proliferację komórek macierzystych. Oba nurty badań są ściśle związane z podstawowymi zainteresowaniami Habilitanta dotyczącymi zastosowania mezenchymalnych komórek macierzystych w medycynie regeneracyjnej. Są one bardzo znacznym rozszerzeniem i uzupełnieniem badań opisanych szczegółowo w osiągnięciu naukowym dr Krzysztofa Marycza z podobnymi wnioskami końcowymi. Badania te prowadził we współpracy z szeregiem znanych polskich i zagranicznych naukowców z Katedry i Kliniki Chirurgii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Kliniki Neurochirurgii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, Katedry Biomateriałów Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie i z SchwarzwaldTierklinik w Niemczech. Ciekawe wyniki badań o dużym znaczeniu praktycznym opublikowano w szesnastu pracach eksperymentalnych.

Trzeci nurt badań Habilitanta dotyczył zastosowania mikroskopii świetlnej i elektronowej w połączeniu ze spektrometrią emisyjną jako technik poznawczych, analitycznych i diagnostycznych. Badania te stanowiły bardzo ważny etap rozwoju warsztatu naukowego Habilitanta i przygotowanie do dalszych badań nad macierzystymi komórkami mezenchymalnymi, w których dr Krzysztof Marycz wykorzystywał z powodzeniem zdobyte doświadczenie w stosowaniu technik instrumentalnych. Ocena prawidłowej morfologii, ultrastruktury i zachowania w warunkach *in vitro* badanych komórek w różnych stanach fizjologicznych była bardzo ważna w ocenie ich propagowania na wybranych biomateriałach w warunkach *in vitro* i *in vivo*.

Prace były prowadzone we współpracy z pracownikami naukowymi Instytutu Technologii Nieorganicznej Politechniki Wrocławskiej, Zakładu Anatomii oraz Zakładu Histologii i Embriologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu

Przyrodniczego we Wrocławiu i Katedry Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Współpraca zaowocowała 12. cennymi publikacjami

Sumaryczny IF publikacji naukowych Habilitanta wynosi 33,682, liczba cytowań 29, indeks Hirscha 3. Na stosunkowo niską wartość liczby cytowań i Indeksu Hirscha ma wpływ fakt opublikowania większości prac w ostatnich kilku latach, z przewagą liczby prac, które ukazały się w druku w latach 2013-2014.

Dr Krzysztof Marycz kierował jednym grantem badawczym, a w 5. był wykonawcą. Habilitant odbył krótkoterminowy staż naukowy w Department of Medicine and the Developmental Biology Research Program at the University of Louisville's James Graham Cancer Center, dwumiesięczny staż asystencki w laboratorium diagnostycznym w Pferdeklinik Grosstheim i pięciomiesięczny staż naukowy w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym CMPK w Warszawie.

### **Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz w zakresie współpracy międzynarodowej**

Dr Krzysztof Marycz ma znaczny dorobek dydaktyczny. Był promotorem 7. prac magisterskich studentów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz promotorem pomocniczym w pracy doktorskiej mgr Jakuba Grzesiaka: „Charakterystyka i zastosowanie autologicznych mezenchymalnych komórek macierzystych (ACS) izolowanych z tkanki tłuszczowej psów”. Habilitant recenzował jeden artykuł w Postęпах Higieny i Medycyny Doświadczalnej.

Dr Krzysztof Marycz uczestniczył w latach 2009-2012 we współpracy międzynarodowej z dwoma niemieckimi partnerami w programie: Equine Metabolic Syndrome – nutraceutical strategy (Muhele Ebert Dielheim) i Evaluation of SEM-EDX application in race horses breeding (Gunter Weil Reinigungsservice GmbH).

### **Podsumowanie**

Przedstawione do oceny osiągnięcia naukowe stanowiące podstawę habilitacji jest dużym wkładem Autora w rozszerzenie wiedzy o potencjale regeneracyjnym mezenchymalnych komórek macierzystych. Uzyskane wyniki mają wysoką wartość naukową i cenne aspekty aplikacyjne. Pozostały dorobek naukowy dr Krzysztofa Marycza jest również znaczący podobnie jak jego aktywność dydaktyczna. Wskazuje to, że jest on dojrzałym, twórczym i rozwijającym się naukowcem, zdolnym do kierowania własną grupą badawczą. Jestem przekonany, że dr Krzysztof Marycz

spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego zawarte w Ustawie o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14. 03. 2011 r. ze zmianami wprowadzonymi Ustawą z dnia 18. 03. 2011 r. oraz w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1. 09. 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Uzasadnia to w pełni moją pozytywną opinię w sprawie nadania dr Krzysztofowi Maryczowi stopnia naukowego doktora habilitowanego.



Czesław Ługowski