

Łódź 26.02.2021r.

Prof. dr hab. n med. Krzysztof Szyłło
Klinika Ginekologii Operacyjnej
i Ginekologii Onkologicznej
Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki
w Łodzi

**Ocena osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego,
dydaktycznego i organizacyjnego dr n med. Macieja Brązerta w postępowaniu o nadanie
tytułu naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o
zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.**

Przebieg kariery zawodowej

Dr n med. Maciej Brązert ukończył Wydział Lekarski Akademii Medycznej w Poznaniu w 2005 roku. W latach 2006-2011 był słuchaczem studiów doktoranckich na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Uzyskał tytuł specjalisty w dziedzinie ginekologii i położnictwa w 2014 roku a specjalisty w zakresie endokrynologii ginekologicznej i rozrodczości w 2017. Zainteresowania kliniczne rozwijał od początku pod kierownictwem prof. Leszka Pawelczyka w Klinice Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. W jednostce tej rozpoczął i kontynuuje do dziś działalność naukową, czego dowodem są liczne publikacje pod postacią prac oryginalnych, doniesień zjazdowych, opisów przypadków, prac przeglądowych oraz rozdziałów w podręcznikach. Dorobek naukowy dr Brązerta jest skondensowany wokół endokrynologii rozrodu i niepłodności, czego dowodem jest temat rozprawy doktorskiej pt. *„Badania ekspresji izoform insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) w jajnikach kobiet z zespołem policystycznych jajników (PCOS)”* pod kierownictwem prof. Leszka Pawelczyka. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych, Habilitant, już jako adiunkt wydaje się być prężnym naukowcem, publikując prace o szerokim spektrum zainteresowań, począwszy od opisów przypadków klinicznych, poprzez zagadnienia endokrynopatii, badania molekularne zwierzęcego układu rozrodczego, a kończąc na zaawansowanych badaniach ludzkich komórek ziarnistych w hodowli pierwotnej.

Ocena osiągnięcia naukowego

Oceniane osiągnięcie naukowe pt.: „*Potencjał różnicowania się ludzkich jajnikowych komórek ziarnistych w modelu hodowli pierwotnej in vitro, uzyskanych od kobiet po kontrolowanej hiperstymulacji jajników*”, przedstawione zostało w cyklu 4 oryginalnych prac twórczych, opublikowanych w latach 2019-2020, w czasopiśmie indeksowanym w bazie *Journal Citation Report (JCR)*, o łącznej punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) = 350pkt oraz sumarycznym współczynniku wpływu - Impact Factor (IF)= 9,009 pkt. (stan na lipiec 2020 r.)

Dr Maciej Brzęert jest pierwszym autorem we wszystkich publikacjach w cyklu, a same prace ułożone tematycznie w logiczną, spójną hipotezę badawczą.

Załączone do dokumentacji artykuły potwierdzają informacje, iż Habilitant pełni w nich rolę znaczącą (akapity *Author Contributions*).

Omawiane prace twórcze są merytorycznie wartościowe i skupiają się wokół wyraźnie wyodrębnionego problemu badawczego, którego celem jest „badanie potencjału oraz kierunków różnicowania się ludzkich jajnikowych komórek ziarnistych w hodowli pierwotnej uzyskanych od kobiet po kontrolowanej hiperstymulacji jajników, a także identyfikacja potencjalnych markerów molekularnych odpowiedzialnych za ten proces.”

Hipoteza główna zrealizowana została przez udowodnienie celów szczegółowych, którymi są:

- Określenie profilu ekspresji genów odpowiedzialnych za cykl komórkowy GCs,
- Charakterystyka profilu ekspresji genów odpowiedzialnych za podział komórkowy oraz charakterystyka ultrastruktury komórek GCs podczas podziału komórkowego,
- Identyfikacja potencjalnych markerów molekularnych charakterystycznych dla procesu różnicowania się GCs w kierunku osteoblastów,
- Identyfikacja potencjalnych markerów molekularnych charakterystycznych dla procesu różnicowania się GCs w kierunku komórek neuropodobnych (ang. „neural-like cells”),

- Identyfikacja genów odpowiedzialnych za różnicowanie się GCs w kierunku komórek nowotworowych,

w długoterminowej hodowli pierwotnej *in vitro*.

Ogólna myśl badawcza oscyluje wokół zdefiniowania znaczenia poszczególnych typów komórek w regulacji fizjologii dojrzewania pęcherzyków jajnikowych, jak również ich zdolności przetrwania i możliwości proliferacji w warunkach *ex vivo*. Zaprojektowane i przeprowadzone w ten sposób badania, umożliwiając metodą ekstrapolacji, poznać mechanizmy regulacji ekspresji poszczególnych genów w zawiłej homeostazie wewnątrz jajnika, podczas folikulogenezy, owulacji, fazy lutealnej oraz stanów nowotworzenia. Osiągnięcie naukowe Habilitanta dotyczy hodowli szczególnych grup komórek ziarnistych, bo pobranych podczas punkcji pęcherzyków jajnikowych. Metody molekularnej analizy ekspresji genów za pomocą mikromacierzy ekspresyjnych umożliwiły mu uzyskanie ogromnej ilości informacji o transkryptomie tych komórek w zmieniającym się środowisku laboratoryjnym. W ocenianym osiągnięciu naukowym, dr Maciej Brzązert poszukuje statystycznie istotnej zmienności ekspresji genów cyklu komórkowego, markerów podziałów komórkowych i właściwości komórek ziarnistych nie tylko do proliferacji, ale także do transformacji w inne typy komórek. Poszukiwanie w komórkach ziarnistych genów uznanych za charakterystyczne dla szerokiego spektrum komórek macierzystych zostało już zapoczątkowane i opisane w nowej literaturze naukowej, jednak oceny prowadzono w obecności czynników różnicujących. Niniejszy, oceniany cykl prac dotyczy medium pozbawionego takich induktorów. Ogrom pracy w projektowaniu założeń, zbieraniu i opracowywaniu materiału oraz samych oznaczeń, analizie, pisaniu i publikacji manuskryptu oraz kosztów badań za pomocą mikromacierzy ekspresyjnych, zasługuje na uznanie dla całego zespołu badawczego. Ten projekt może stanowić doskonały punkt wyjścia do zaplanowanych przez Habilitanta rozszerzonych badań nad komórkami kumulusa (czyli też ziarnistymi) i oocytami ludzkimi, a także ich wzajemnych interakcji.

W autoreferacie przedstawiono i omówiono każdą z prac oddzielnie, a opis uzyskanych wyników został podsumowany wnioskami wynikającymi z każdej publikacji.

Założenia, jakie zrealizowano w cyklu prac objęte zostały zatem poniższymi rezultatami.

Zaprzeczając licznym źródłom literaturowym i hipotezie, że komórki ziarniste ulegają apoptozie w ciągu kilkunastu dni po procesie luteinizacji, uzyskano obserwacje wysokiej ekspresji genów biorących udział w progresji cyklu komórkowego, podczas długoterminowej hodowli pierwotnej *in vitro*, bez czynników indukujących. Badania zasugerowały zatem, że komórki ziarniste, poddane

kolejnym procedurom w technikach rozrodu wspomaganego, a następnie utrzymywane w hodowli pierwotnej, zachowują prawidłowy cykl komórkowy przez 30 dni tej hodowli. Te przedłużone zdolności przetrwania komórek ziarnistych w warunkach hodowli pierwotnej, zasugerowały badaczom ich potencjał do proliferacji i różnicowania się w inne typy komórek. Zauważono, iż zaobserwowane zmiany ich morfologii mogłyby być regulowane właśnie przez udokumentowany zestaw genów, co mogłoby prowadzić do zmian zachodzących na poziomie transkryptomu, a także do indukcji szlaków sygnałowych specyficznych dla plastyczności, macierzystości i/lub przekształcania komórek w warunkach in vitro.

Wyniki dalszych badań połączyły następnie szereg obecnie znanych genów związanych z podziałem mitotycznym w warunkach in vitro, dając potencjalny obraz procesów zachodzących in vivo czy ex vivo w ludzkich komórkach ziarnistych. Uzyskano bowiem nie tylko obrazy mikrostruktury obszarów charakterystycznych dla podziału komórki (centrosomu, układu mikrotubul i mitotycznego wrzeciona kariokinetycznego), ale również dowody ekspresji genów charakterystycznych dla wzrostu, proliferacji, migracji komórek oraz cytokinezy oraz szybkich podziałów komórek nowotworowych. Zasugerowano zatem, że przedstawione geny mogą posłużyć częściowo jako markery molekularne rozrostowych procesów nowotworowych, wywodzących się z linii komórek ziarnistych. Ekspresja powyższych genów została również zaobserwowana w fizjologicznych warunkach, np. podczas formowania pęcherzyka jajnikowego. Zaobserwowano jednocześnie spadek ekspresji pewnych genów fizjologii komunikacji z oocytem lub implantacji zarodka, co wydaje się uzasadnione ze względu na zmienione środowisko komórek, ale jednocześnie może świadczyć o zmianie ich właściwości w hodowli.

Analizowany cykl prac rozwinął założenie, iż kolejnym, niezbędnym etapem byłoby zbadanie potencjału „macierzystości” prowadzonej hodowli. Wykonano zatem analizę mikromacierzy ekspresyjnych, w celu identyfikacji genów odpowiedzialnych za proces różnicowania się komórek ziarnistych w kierunku linii o właściwościach osteoblastów. Zidentyfikowano także geny, które mogą być markerami różnicowania w kierunku innych typów komórek, co świadczy o dużej ich plastyczności i posiadaniu przez nie właściwości komórek macierzystych.

Cel ten rozwinięto koncentrując badania na wyselekcjonowaniu potencjalnych markerów różnicowania się komórek ziarnistych w kierunku tkanki nerwowej, a dokładniej komórek określanych w literaturze mianem „neural-like cells”. Wykazano, iż ekspresja genów uczestniczących w procesach tworzenia i różnicowania się tkanki nerwowej podczas długotrwałej hodowli, jest znamienne wyższa od kontroli, co łącznie z opisanymi powyżej wynikami markerów kościotworzenia, potwierdza potencjał różnicowania i transformacji jednego typu komórek w inny.

Będąc świadomym, iż uzyskane wyniki są wiedzą opartą o poziom ekspresji genowej, ukazującą także wielopłaszczyznowość badanych procesów, Habilitant we wszystkich pracach opisał walidację wyników, w celu potwierdzenia kierunku zmian poszczególnych genów za pomocą metody ilościowej RT-qPCR.

Uważam, iż przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe stanowi cenny wkład w wiedzę na temat profilu transkryptomicznego komórek ziarnistych w warunkach hodowlanych. Mając tak skonstruowane podłoże merytoryczne, można prowadzić kolejne etapy badań, również proteomiczne, stanowiące wstęp do hodowania ludzkich komórek układu kostnego i nerwowego. Mając jednak na uwadze, iż wiele genów należy do różnorodnych grup ontologicznych, wnioski z uzyskanych wyników muszą być formułowane ostrożnie i pokornie.

Uważam jednak, iż potencjalne, długofalowe efekty powyższych badań są niezwykle wartościowe. Hodowla i użycie transformowanych dojrzałych komórek somatycznych do bezpośredniego wykorzystania w procesach leczniczych lub regeneracyjnych jest ogromną nadzieją medycyny.

Ocena dorobku naukowego

Analiza bibliometryczna dorobku dr Macieja Brązerta poza osiągnięciem, dokonana przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, wykazała 30 publikacji z IF, 14 bez IF, 5 prac poglądowych i 5 rozdziałów w podręcznikach co daje łączną punktację 70,279 IF, a suma punktów MNiSW 1444. Łączna liczba cytowań wg Web of Science wynosi 194, a Index Hirsha 8.

Dr Maciej Brązert swoje osiągnięcia od początku kariery naukowej koncentruje wokół problemów ginekologii endokrynologicznej, publikując również przypadki typowo kliniczne, biorąc jednocześnie udział w projektach dotyczących patologii ciąży. Załączone przez habilitanta dokumenty świadczą o wielokierunkowości badań, które prowadził lub w których uczestniczył już od czasów studiów i w okresie przed uzyskaniem stopnia doktora. Dotyczyły one między innymi ciąży powikłanej cukrzycą, gdzie dzięki współpracy wielośrodkowej z Uniwersytetem w Malmo, dr Brązert uczestniczył w projektach wykorzystujących metody ultrasonograficzne i molekularne w diagnostyce położniczej. Kolejne prace dotyczyły już aspektów molekularnych poszukiwania czynników mających znaczenie w ciążach patologicznych, takich jak *śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (eNOS)* oraz *konwertaza angiotensyny (ACE)*, a także *wisfatyny* i biomarkerów stresu oksydacyjnego.

Następnym etapem drogi naukowej Habilitanta było poszukiwanie mechanizmów wewnątrzjajnikowej kontroli ekspresji genowej w zespole policystycznych jajników (PCOS), co zaowocowało powstaniem pracy doktorskiej oraz publikacji oryginalnej. Na uwagę zasługuje fakt współpracy z prof. dr hab. Anną

Goździcką-Józefiak, kierownikiem Zakładu Wirusologii Molekularnej na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu oraz prof. Antonim Dulebą, kierownikiem Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, University of California, San Diego, La Jolla, CA, USA.

Kolejne doniesienia, rozdziały w podręcznikach, prace naukowe z ostatnich lat ukazują dalszy rozwój zainteresowań Habilitanta medycyną rozrodu, coraz silniej ukierunkowany na eksperymenty molekularne i genetyczne. Ukierunkowanie to potwierdzone jest podjęciem kolejnej współpracy z prof. Xiangdong Li z Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, China Agricultural University, Beijing, China oraz prof. Sławomirem Wołczyńskim, kierownikiem Kliniki Rozrodczości i Endokrynologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Najnowsze doniesienia Habilitanta są rezultatem badań opartych na technikach biologii komórki oraz biologii molekularnej. Nadrzędnym celem wydaje się być chęć poznania mechanizmów molekularnych, zaangażowanych w procesy związane z rozrodem, endokrynologią ginekologiczną oraz zagadnieniem niepłodności. Realizowane badania, dotyczą przede wszystkim z analiz transkryptomu poszczególnych typów komórek, pochodzących z układu rozrodczego: komórek ziarnistych (ang. *Granulosa cells*, GCs) oraz komórek kumulusa (ang. *Cumulus ophorus cells*, CCs) pozyskiwanych od kobiet podczas procedury zapłodnienia pozaustrojowego.

Realizację zamierzonych celów naukowych habilitant realizuje we współpracy z Katedrą i Zakładem Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Zespół naukowy, w którym dr Maciej Brzązert jest badaczem, umożliwił mu z pewnością dalszy rozwój wiedzy i doświadczenia w aspekcie molekularnych i biologicznych mechanizmów kontroli rozrodu. Eksperymentując pierwotnie na materiale zwierzęcym, uzyskując doświadczenie, fachowość i kompetencję, Habilitant wydaje się mieć solidne podstawy do dalszych projektów. Wynik tego postępu możliwy był również dzięki udziałowi w badaniach transkryptomicznych na modelu świni domowej, dotyczących komórek ziarnistych, komórek kumulusa, oocytów i nabłonka jajowodu. Doświadczenia te umożliwiły podjęcie działań analitycznych na materiale ludzkim, gdzie Habilitant opublikował prace do osiągnięcia naukowego, ale też mnogość artykułów dotyczących zarówno komórek ziarnistych, jak i kumulusa. Ponadto dr Maciej Brzązert był częścią zespołu badaczy, analizujących zjawiska wrażliwości i oporności lekowej linii komórkowych raka jajnika.

Bierze obecnie udział w projekcie naukowym pt.: „Badanie właściwości sekrecyjnych oraz zdolności do różnicowania się ludzkich jajnikowych komórek ziarnistych i komórek kumulusa w warunkach hodowli pierwotnej” (2018/31/B/NZ5/02475), finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki.

Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne

Dr med. Maciej Brązert prowadzi bardzo szeroką działalność dydaktyczną zarówno przed jak i podyplomową. W zakresie dydaktyki przed dyplomowej prowadził zajęcia kliniczne, wykłady i seminaria ze studentami Wydziału Lekarskiego oraz ze studentami angielskojęzycznymi a także cykl zajęć na Wydziale Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Zaangażowany jest w działalność naukowo-dydaktyczną Studenckiego Koła Naukowego Katedry Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej. Prowadzi wykłady i seminaria podczas kursów specjalizacyjnych w położnictwie i ginekologii organizowanych przez Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego. Brał czynny udział w organizacji konferencji naukowych, prezentował wykłady na ogólnopolskich zjazdach, dwukrotnie uzyskał Nagrody Zespołowe Naukowe JM Rektora UM w Poznaniu.

Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników, Polskiego Towarzystwa Medycyny Rozrodu i Embriologii, Europejskiego Towarzystwa Rozwoju Człowieka i Embriologii.

Wniosek końcowy

Działalność dr n med. Macieja Brązerta w zakresie naukowym, dydaktycznym i klinicznym jest godna uznania. Posiada oryginalny i obszerny dorobek naukowy związany z kilkoma zagadnieniami który wskazuje na posiadanie niezwykle szerokiej wiedzy i doświadczenia klinicznego o czym świadczą podejmowane zagadnienia z pogranicza medycyny rozrodu, genetyki molekularnej, endokrynologii ginekologicznej, onkologii i ginekologii.

Przedłożony do oceny cykl publikacji pt: „Potencjał różnicowania się ludzkich jajnikowych komórek ziarnistych w modelu hodowli pierwotnej in vitro, uzyskanych od kobiet po kontrolowanej hiperstymulacji jajników”, świadczy o tym, że jej Autor jest dojrzałym pracownikiem nauki, dobrze przygotowanym metodycznie i merytorycznie do prowadzenia samodzielnych badań.

Habilitant współpracuje z zespołami realizując wspólne prace badawcze o ważnych aspektach poznawczych i praktycznych dotyczących zagadnień rozrodu i innych dziedzin medycyny.

W oparciu o przedstawione mi osiągnięcia naukowe w tym cykl publikacji, które oceniam wysoce pozytywnie, przedkładam Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, wniosek o dopuszczenie dr n med. Macieja Brązerta do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Prof. dr hab. n. med.
Krzysztof Szytło
Specjalista położnictwa i ginekologii
Specjalista ginekologii onkologicznej
Nr ZUS 6765249