I KATEDRA GINEKOLOGII I POŁOŻNICTWA
UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO W ŁODZI
Klinika Medycyny Płodu i Ginekologii
Kierownik Katedry i Kliniki:
Prof.dr hab.med.Piotr Sieroszewski
ul.Wileńska 37, 94-029 Łódź
tel/fax (42) 686-04-71
e-mail: igp@csk.umed.lodz.pl

Łódź, 20.02.2020 r.

OCENA OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH DR N. MED. MACIEJA BRĄZERTA DO NADANIA STOPNIA DR HABILITOWANEGO NAUK MEDYCZNYCH

Rada Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu powierzyła mi rolę recenzenta dorobku naukowego dr n. med. Macieja Brązerta w związku z jego staraniami o nadanie tytułu naukowego doktora habilitowanego nauk medycznych.

Przedmiotem oceny jest stwierdzenie, czy osiągnięcia naukowe Kandydata spełniają kryteria określone w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. oraz stanowią podstawę do nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Po zapoznaniu się z otrzymanymi dokumentami elektronicznymi stwierdzam że składają się one z następujących pozycji: autoreferat, cykl prac z oświadczeniami autorów, analiza bibliometryczna publikacji, dane wnioskodawcy, kopia dyplomu nadania stopnia doktora nauk medycznych, wniosek o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego, opis kierunków rozwoju naukowego, wykaz osiągnięć naukowych.

Przebieg pracy naukowo-zawodowej:

Dr n. med. Maciej Brązert ukończył studia na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Poznaniu w 2005 roku. W 2014 roku zdał z wyróżnieniem egzamin specjalizacyjny z położnictwa i ginekologii, a w 2017 roku z endokrynologii ginekologicznej i rozrodczości. Od 2006 roku pracuje w Klinice Niepłodnośći i Endokrynologii Rozrodu Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, obecnie na stanowisku adiunkta Kliniki.

Dr n. med. Maciej Brązert uzyskał stopień doktora nauk medycznych po obronie rozprawy zatytułowanej: *Badania ekspresji izoform insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) w jajnikach kobiet z zespołem policystycznych jajników (PCOS)* przed Radą Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w 2012 roku.

W ramach oceny dorobku naukowego będącego podstawą do nadania stopnia doktora habilitowanego podstawowym osiągnięciem jest cykl pracy oryginalnych zatytułowany „Potencjał różnicowania się ludzkich jajnikowych komórek ziarnistych w modelu hodowli pierwotnej in vitro, uzyskanych od kobiet po kontrolowanej hiperstymulacji jajników". Na osiągnięcie naukowe składają się 4 prace oryginalne opublikowane w recenzowanych, anglojęzycznych czasopismach naukowych o łącznej punktacji MNiSW 350 pkt oraz wskaźniku cytowań IF 9,009.

Na cykl składają się nastepujące prace oryginalne:
1. *Transcriptomic profile of cell cycle progression genes in human ovarian granulosa cells.* Maciej Brązert i wsp. J. Biol. Regul. Homeost. Agents 2019:Vol. 33, nr 1, s.39-52 IF: 1,506; MNiSW 70

2. *Human ovarian granulosa cells isolated during an IVF procedure exhibit differential expression of genes regulating cell division and mitotic spindle formation.* Maciej Brązert I wsp. J. Clin. Med. 2019 : Vol. 8, nr 12, art. 2026 s. 1-19 IF 3,303, MNiSW 140

3. *Novel markers of human ovarian granulosa cell differentiation toward osteoblast lineage: A microarray approach.* Maciej Brązert i wsp. Mol. Med. Rep. 2019 : Vol. 20, nr 5, s. 4403-4414 IF 2,1; MNiSW 70

4. *Expression of genes involved in neurogenesis, and neuronal precursor cell proliferation and development: Novel pathways of human ovarian granulosa cell differentation and transdifferentation capability in vitro.* Maciej Brązert i wsp. Mol. Med. Rep. 2020: Vol. 21, nr 4, s. 1749-1760. IF 2,1, MNiSW 70

Ocena działalności naukowej w tym osiągnięcia będącego podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

Recenzja dotyczy dorobku oraz cyklu prac, który ogniskuje się wokół zagadnienia hodowli komórek ziarnistych w warunkach in vitro, a uzyskanych od kobiet podczas punkcji hiperstymulowanych jajników w procedurze zapłodnienia pozaustrojowego.

Habilitant wydaje się posiadać dobre przygotowanie naukowe do prowadzenia zaprojektowanych, ambitnych dociekań nad ekspresją genową we wspomnianej linii komórkowej, ponieważ jego wcześniejszy dorobek związany jest z badaniami molekularnych podstaw fizjologii i patologii jajnika. Zwieńczeniem jego interesujących badań dotyczących roli izoform insulinopodobnego czynnika wzrostu IGF-1 w jajnikach kobiet zdrowych i obciążonych zespołem policystycznych jajników, była praca doktorska, w której uzyskano nowatorskie wyniki. Owocująca w publikacje współpraca Habilitanta z Katedrą i Zakładem Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu rozpoczęta po uzyskaniu stopnia doktora, była kierunkiem koniecznym dla kontynuacji zainteresowań aspektem molekularno-genetycznej analizy procesów zachodzących w ludzkich jajnikach. Umożliwiło to połączenie możliwości uzyskania materiału klinicznego i jego biologicznego opracowania w specjalistycznych laboratoriach. Ciekawym, a zarazem godnym podkreślenia faktem jest udział dr Brązerta w projektach i publikacjach dotyczących badań jajników zwierzęcych. Pozwoliło to z pewnością na uzyskanie doświadczenia i wiedzy o biologii molekularnych kontroli aktywacji, wzrastania i dojrzewania pęcherzyków w gonadach ssaków. Habilitant chce kontynuować tą ścieżkę naukową planując badania dotyczące analizy ekspresji genowej i transkryptomicznej oocytów ludzkich.

We wszystkich czterech oryginalnych artykułach będących podstawą oceny starań o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego dr Brązert jest pierwszym autorem. Jego wkład pracy w cykl publikacji obejmujący zaplanowanie hipotezy badawczej, zebranie materiału, wykonanie oznaczeń, opracowanie wyników i napisanie prac, po przeanalizowaniu załączonej dokumentacji należy uznać za wiodący. Zgodnie z opisem Autora cykl prac jest składową wielotematycznego projektu badań nad ludzkimi komórkami jajnikowymi – ziarnistymi, oocytami i komórkami cumulusa. Chciałbym podkreślić niepodważalny wkład omawianego osiągnięcia naukowego do poszerzenia wiedzy na temat fizjologii rozrodu w jajniku ludzkim.

Oryginalne prace twórcze w cyklu są merytorycznie spójne i skupiają się wokół wyraźnie zdefiniowanego problemu badawczego, który dotyczy zjawiska proliferacji, kierunków różnicowania się i potencjalnych właściwości macierzystych hodowanych komórek ziarnistych, a także badania markerów molekularnych odpowiedzialnych za te procesy. Kryteria włączenia pacjentek do badań wydają się być precyzyjne i odpowiednio dobrane, a metody pobierania materiału do badań oraz techniki biologii molekularnej i obrazowania mikroskopowego, prawidłowe. Muszę zauważyć doskonałe przygotowanie Habilitanta do

wykonania zaprojektowanych badań zarówno pod względem metodyki jak i organizacji warsztatu badawczego.

Jak powszechnie wiadomo, komórki macierzyste łączą w sobie dwie podstawowe właściwości: wysoką aktywność regeneracji (samoodnawiania) oraz potencjał do różnicowania się, co odróżnia je od innych linii somatycznych organizmu. Badania wpisują się w trend poszukiwań mechanizmu regeneracji dojrzałych komórkach organizmów żywych lub ich różnicowania w inne typy. Habilitant w osiągnięciu naukowym skupia się na badaniu ekspresji markerów aktywności proliferacyjnej i macierzystości dojrzałych (zluteinizowanych) komórek ziarnistych. Hodowane w medium bez czynników różnicujących przejawiają one potencjał proliferacji i różnicowania w inne typy komórek. W cyklu prac wykazano zatem, że obserwowanym zmianom morfologii komórkowej po odpowiednim czasie hodowli towarzyszą zmiany profilu transkryptomicznego w komórkach ziarnistych.

W pierwszej pracy z cyklu analizowano grupy ontologiczne genów w ściśle określonych punktach czasowych, wobec 24 godzin hodowli jako kontroli. Wykazano znamiennie wyższą ekspresję genów odpowiedzialnych za regulację cyklu komórkowego, przejście komórek w poszczególne jego fazy, a także tzw. punkty kontrolne, niezwykle istotne w kontekście analizowanych komórek utrzymywanych w warunkach in vitro. Zidentyfikowano ekspresję genów *KANK2, MCM7, CCNE1, CCNE2, CDT1, CDKN3,* odpowiedzialnych za przejście z fazy G1 do fazy S cyklu komórek ziarnistych, za prawidłowe umieszczenie widełek replikacyjnych na chromosomalnym DNA, co zapewnia, poprawną, pojedynczą replikację genomu podczas jednego cyklu komórkowego. Powyższe mogą także mieć związek z prawidłowym przebiegiem folikulogenezy w warunkach in vivo. W pracy tej zidentyfikowano również geny związane z kolejnym etapem cyklu komórkowego GCs - przejściem z fazy G2 do M: *CAMK2D, CDK14, AJUBA, TUBA1A, CCNB2* i wiele innych.

Ekspresja genu *AJUBA* odznaczyła się znamiennie istotnym wynikiem, a jest on markerem proliferacji i różnicowania się komórek ziarnistych w kierunku innych typów komórek. *AJUBA, ale także CCNB2* zidentyfikowano także w totipotencjalnych komórkach macierzystych, również embrionalnych. Dodatkowo geny te ulegają aktywacji podczas proliferacji, migracji oraz różnicowania się linii komórkowych.

Powyższe badanie sugeruje, że komórki ziarniste pobrane podczas punkcji hiperstymulowanych jajników utrzymywane w hodowli pierwotnej, zachowują prawidłowy cykl komórkowy przez około 30 dni i zdolności do proliferacji i transformacji w inne typy.

Druga praca z cyklu ukazała ultrastrukturalne cechy podziałów mitotycznych w komórkach ziarnistych w kolejnych dniach hodowli, co potwierdzone zostało technikami mikromacierzy ekspresyjnych. Wykazano znamiennie podwyższenie ekspresji między innymi: *FAM64A, ANLN, TOP2A i CTGF,* które są odpowiednio obserwowane w szybko proliferujących komórkach, w tym także komórkach nowotworowych. Geny, których poziom ekspresji zanikał, przede wszystkim odpowiadały za prawidłową komunikację GCs z oocytem oraz implantację zarodka, *(EREG,* a także prawidłowe funkcjonowanie osi podwzgórze – przysadka – jajnik *(INHA).*

W trzecim artykule przeprowadzono analizę mikromacierzy ekspresyjnych, w celu identyfikacji genów potencjalnie odpowiedzialnych za proces różnicowania się GCs w kierunku komórek o właściwościach osteoblastów. Ponadto, oceniono także geny, które mogą być markerami molekularnymi procesu i potencjału różnicowania się komórek ziarnistych w kierunku innych typów, co świadczy o dużej ich plastyczności i posiadaniu przez nie właściwości komórek macierzystych. Wyodrębniono szereg znamiennych ekspresji genowych w hodowli względem kontroli, gdzie charakterystyczne *Wnt/β, BMP* to typowe geny kościotworzenia, a *COL1A* odpowiada za syntezę kolagenu.

Podobnym założeniem charakteryzuje się czwarta praca w cyklu, która dotyczyła markerów molekularnych różnicowania się komórek ziarnistych w kierunku neuropodobnych „ neural-like cells" . Wykazano zwiększoną ekspresję szeregu genów grup ontologicznych "Neurogenesis" (GO:0022008), "Neuronal precursor cell proliferation" (GO:0061351) i "Nervous system development" (GO:0007399), które są związane z powstawaniem neuronów. Nowym odkryciem natomiast było pojawienie się wysokiej ekspresji genu *ITGA3*. Integryny bowiem, a do nich należy czynnik kodowany przez powyższy *ITGA3*, są dość słabo poznanie w dojrzałym układzie nerwowym, wiadomo jednak, że biorą one udział w rozwoju neuronalnym podczas embriogenezy.

Wysoka wartość powyżej analizowanego osiągnięcia naukowego polega na potwierdzeniu możliwości hodowli i proliferacji, a także ukierunkowaniu danej linii dojrzałych komórek ziarnistych do przekształcania się w inne typy komórek. Te bardzo ciekawe a jednocześnie zaskakujące z punktu widzenia klasycznej teorii biologii spostrzeżenia dotyczące właściwości wzrostu i różnicowania komórek w medium bez czynników indukujących są niewątpliwie nowatorskie i podkreślają wartość osiągnięcia naukowego.

Wyniki cyklu prac wskazują, że opisywane, wyselekcjonowane geny można uznać za hipotetyczne markery nieindukowanego potencjału różnicującego komórek ziarnistych. Bazując na wynikach badań, nie można wykluczyć, że komórki ziarniste nadają się do opracowania linii komórkowej wykazującej cechy kostne lub neuronalne.

Wnioski wynikające z osiągnięcia naukowego być może stanowią wskazówkę dla wykorzystania w przyszłości dojrzałych i zluteinizowanych komórek ziarnistych.

Potencjał różnicowania komórek ziarnistych do innych typów komórek może w przyszłości pokazać sposób uzyskania odtwórczych linii komórkowych lub całych tkanek.

Łączna ocena osiągnięć kandydata

Dr Maciej Brązert aktywność naukową rozpoczął już podczas studiów w Studenckim Kole Naukowym, zdobył I Nagrodę w Międzynarodowym Kongresie Studentów w 2002 roku. Po rozpoczęciu pracy w Klinice Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu UM w Poznaniu przebywał na 3 stażach naukowych w Department of Obstetrics and Gynaecology w Malmoe w Szwecji. W tym okresie był współautorem 2 publikacji oryginalnych dotyczących zastosowania badań Dopplerowskich w patologii późnej ciąży. Kontynuując pracę naukową w Klinice obronił dysertację doktorską w 2012 roku (wspominaną uprzednio w recenzji). Należy podkreślić, że badania dr naukowe Macieja Brązerta prowadzone były w multidyscyplinarnym zespole o międzynarodowym charakterze. Na ich podstawie powstawały doniesienia zjazdowe i prace oryginalne w anglojęzycznych wysokopunktowanych periodykach naukowych. Habilitant jest wykonawcą w 2 projektach naukowych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki które dotyczą zagadnień spójnych w ogólnymi zainteresowaniami naukowymi kandydata.

Dr Maciej Brązert jest aktywnym nauczycielem akademickim, prowadzi także dydaktykę na kursach organizowanych przez CMKP. Jest kierownikiem specjalizacji w położnictwie i ginekologii. Bierze czynny udział w ogólnopolskich konferencjach naukowych.

Habilitant otrzymał 2 nagrody zespołowe naukowe JM Rektora UM w Poznaniu. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników, w tym klubu 35 grupującego młodych naukowców PTGiP. Należy do organizacji naukowych polskich i międzynarodowych (ESHRE). Jest także promotorem pomocniczym rozprawy doktorskiej.

Dr Maciej Brązert jest twórcą opatentowanego wynalazku dotyczącego środka kontrastującego do badania drożności jajowodów. Posiada liczne certyfikaty i dyplomy zawodowe.

Całkowity dorobek naukowy poza cyklem wg analizy bibliometrycznej dr Macieja Brązerta wynosi 50 publikacji, w tym 30 prac z wskaźnikiem oddziaływania IF. Łączna punktacja prac MNiSW to 1642 pkt., a IF 70,279. Indeks Hirscha 8 a liczba cytowań 156.

Podsumowując stwierdzam, że badania prowadzone przez dr med. Macieja Brązerta charakteryzuje się spójnym kierunkiem prowadzenia pracy naukowej o dużej wartości merytorycznej. Cykl publikacji będących podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego jest oryginalnym rozwiązaniem problemu badawczego, wnoszącym novum do wiedzy medycznej.

Moja całościowa ocena dorobku naukowego dr Macieja Brązerta po zapoznaniu się z osiągnięciem naukowym oraz resztą dokumentacji wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego jest jednoznacznie pozytywna. Pragnę szczególnie podkreślić nowatorski charakter badań oraz uzyskanie wyników, które mogą w przyszłości pomóc uzyskać przełom w opracowaniu metody regeneracji tkanek.

Uważam, że dokonania naukowe dr med. Macieja Brązerta spełniają kryteria określone w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.)

Przedstawiam Radzie Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wniosek o nadanie dr n. med. Maciejowi Brązertowi stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych.

Prof. dr hab. med. Piotr Sieroszewski

KIEROWNIK
I Katedry Ginekologii i Położnictwa
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Prof. dr hab. n. med. Piotr Sieroszewski