

Prof. dr hab med. Grzegorz Jakiel

Kierownik I Kliniki Położnictwa i Ginekologii

CMKP w Warszawie.

Ocena dorobku naukowego i dydaktycznego oraz osiągnięcia naukowego pt „Mechanizmy patogenetyczne infekcji bakteryjnych w nasieniu ludzkim. Potencjalne biomarkery zapalne w nasieniu”

dr n med Moniki Frączek adiunkta w Instytucie Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu.

Dr n med. Monika Frączek ukończyła Wydział Farmaceutyczny Akademii Medycznej w Poznaniu uzyskując tytuł magistra analityki medycznej, na podstawie obronionej pracy magisterskiej: „Wpływ związków polifenolowych na aktywność mikrosomalnych monooksygenaz”. Praca zajęła I miejsce w 33. Konkursie Prac Magisterskich Wydziału Farmaceutycznego AM w Poznaniu. Po ukończeniu studiów podjęła pracę w Instytucie Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu początkowo na warunkach wolontariatu potem kolejno jako asystent i adiunkt.

W 2006 roku obroniła pod kierunkiem Prof Macieja Kurpisza doktorat nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Stan zapalny w męskim układzie rozrodczym a metabolizm tlenowy plemników”.

Dorobek naukowy dr Moniki Frączek obejmuje 38 pozycji naukowych o łącznej wartości ponad 62 pkt IF i 671 pkt MSzW, indeks Hirscha wg WoS wynosi 11.

Dorobek naukowy dr Moniki Frączek jest niezwykle spójny tematycznie i dotyczy w całości tematyki andrologicznej a w jej obrębie oddziaływania stanu zapalnego na jakość nasienia. Aktywność naukowa i publikacyjna była rozwijana niezwykle systematycznie a jedyna przerwa w publikacjach naukowych miała miejsce po obronie doktoratu w okresie od 2008 do 2011 roku.

Spośród ponad 30 publikacji pochodzących z okresu po obronie doktoratu dr Monika Frączek wybrała 6 publikacji jako osiągnięcie naukowe (5 oryginalnych i jedną przeglądową) i opatrzyła je zbiorczym tytułem MECHANIZMY PATOGENETYCZNE INFEKCJI BAKTERYJNYCH W NASIENIU LUDZKIM. POTENCJALNE BIOMARKERY ZAPALNE W NASIENIU.

Wybrane publikacje mają zbiorczy IF ponad 14 pkt, we wszystkich dr Monika Frączek jest pierwszym autorem a Jej wkład jest oceniany na udział od 40 do 95%. 5 prac ukazało się w najbardziej prestiżowych, światowych periodykach naukowych z dziedziny rozrodu, we wszystkich dr Monika Frączek była twórczynią koncepcji pracy i redaktorką finalnej wersji.

Od wielu lat badacze zdają sobie sprawę z rosnącego znaczenia klinicznego czynnika męskiego niepłodności. Obecne szacunki wskazują na ponad 50% udział mężczyzny w niepowodzeniach prokreacji, jednocześnie rośnie świadomość nieadekwatności używanych badań i testów w ustaleniu grupy mężczyzn niepłodnych i subpłodnych. Szczególnie dobitnie jest to widoczne w odniesieniu do czynników infekcyjnych, gdzie problem bakterii saprofitycznych, oraz stężeń uznawanych za patognomoniczne jest daleki od rozwiązania. Autorka we wstępie do prezentacji swoich dokonań pisze między innymi:

“Pomimo prowadzonych od lat badań, brak jest przekrojowych opracowań, które pozwalają zrozumieć patofizjologiczny mechanizm odpowiedzialny za

szkodliwy wpływ infekcji bakteryjnej w układzie moczowo-płciowym na płodność męską. W dotychczasowych nielicznych pracach eksperymentalnych i klinicznych sugeruje się udział apoptozy i stresu oksydacyjnego, jako potencjalnych mechanizmów odpowiedzialnych za powstawanie męskiej subpłodności/niepłodności związanej z lokalną infekcją bakteryjną. Jednakże do tej pory nie uzyskano pełnego obrazu zmian w ejakulowanych plemnikach ludzkich, będących efektem skoordynowanego działania ww. procesów i jednocześnie charakterystycznych dla poszczególnych mediatorów zapalnych.” Mimo świadomości, że obok Autorki temu zagadnieniu poświęcili gros swojej aktywności badawczej tacy uczeni jak choćby John Aitken czy Ashok Agrawal nie sposób nie zgodzić się z dr Moniką Frączek że prezentowane przez Nią opracowanie jest ambitne i nowatorskie.

Główne cele podjętych badań Autorka definiuje jako

- identyfikacja mechanizmów patogenetycznych infekcji bakteryjnych w nasieniu na podstawie niekonwencjonalnej charakterystyki ejakulowanych plemników ludzkich w warunkach bakteriospermii i/lub leukocytospermii oraz
- wytypowanie nowych biomarkerów najbardziej informatywnych dla diagnostyki i późniejszej terapii niepłodności związanej z infekcją bakteryjną nasienia.

Cele powyższe dr Monika Frączek realizowała poprzez analizę struktur subkomórkowych plemnika, obejmujących ocenę integralności błon komórkowych, aktywności mitochondriów oraz integralności DNA, w środowisku bakterii i/lub leukocytów.

W pierwszej publikacji (Frączek M, Piasecka M, Gaczarzewicz D, Szumala-Kakol

A, Kazienko A, Lenart S, Laszczynska M, Kurpisz M. Membrane stability and mitochondrial activity of human-ejaculated spermatozoa during in vitro experimental infection with Escherichia coli, Staphylococcus haemolyticus and Bacteroides ureolyticus. *Andrologia*. 2012, 44:315-329) Autorka wykazała, że ekspozycja ejakulowanych plemników na czynnik infekcyjny w warunkach in vitro, w zasadniczy sposób wpłynęła również na obniżenie integralności błon komórkowych plemników. Zaburzeniom tym towarzyszyły defekty mitochondriów plemników związane z upośledzeniem procesów zależnych zarówno od potencjału błonowego (test z sondą mitochondrialną JC-1) jak i oksydoredukcyjnego (test cytochemiczny NADH-NBT) tych organelli komórkowych. Obserwacje te po raz kolejny zwracają uwagę na poważny problem, jakim jest kwestia kolonizacji męskiego układu rozrodczego przez wiele szczepów bakteryjnych.

W publikacji Fraczek M, Wiland E, Piasecka M, Boksa M, Gaczarzewicz D, Szumala-Kakol A, Kolanowski T, Beutin L, Kurpisz M. Fertilizing potential of ejaculated human spermatozoa during in vitro semen bacterial infection. *Fertil Steril*. 2014, 102:711-719.e1. Autorzy podjęli próbę weryfikacji poprzednio przeprowadzonych badań i odpowiedzi na pytanie czy uszkodzenia błon komórkowych plemników w czasie infekcji bakteryjnej nasienia mogą bezpośrednio wpływać na ich funkcję biologiczną w warunkach in vitro. Przeprowadzono analizę cytometryczną plemników wybarwionych SYBR-14 i PI oraz merocyjaniną 540 I stwierdzono, że wszystkie zastosowane w pracy szczepy bakteryjne miały destrukcyjny wpływ na architekturę dwuwarstwy lipidowej błon, a zmianom tym towarzyszyło obniżenie ruchliwości plemników. Powyższe wyniki znalazły potwierdzenie w teście hipoosmotycznym (HOS). W celu oceny zdolności zapładniającej plemników w omawianej pracy zastosowano test in vitro ksenogenicznej penetracji do oocytów chomika (ang.

sperm penetration assay, SPA). Inkubacja plemników z poszczególnymi szczepami bakteryjnymi wiązała się ze statystycznie istotnym obniżeniem wartości testu penetracji w stosunku do plemników kontrolnych.

Generalnie – Autorzy skorelowali subkomórkowe zmiany w błonach biologicznych plemników zachodzące w czasie infekcji bakteryjnej nasienia z ich potencjałem rozrodczym. Uszkodzenie asymetrii dwuwarstwy lipidowej błon komórkowych plemników wydaje się być główną przyczyną zmian degeneracyjnych, które można przypisać zarówno bakteriom patogennym, jak i potencjalnie patogennym. Te ustalenia są bardzo istotne w klinice niepłodności.

Kolejna publikacja Fraczek M, Hryhorowicz M, Gaczarzewicz D, Szumala-Kakol A, Kolanowski T, Beutin L, Kurpisz M. Can apoptosis and necrosis coexist in ejaculated human spermatozoa during in vitro semen bacterial infection. *J Assist Reprod Genet.* 2015, 32:771-9 wskazuje, że różne gatunki bakterii są silnym bodźcem kierującym gamety męskie na drogę apoptozy. Spośród badanych szczepów bakteryjnych, większy efekt proapoptotyczny wykazano w obecności bakterii kolonizujących męski układ moczowo-płciowy. Obserwowana słabsza ekspresja wszystkich badanych markerów apoptozy w obecności zastosowanego uropatogenu potwierdziła, że patogeniczność *E. coli*, szczepu w stosunku do którego najlepiej udokumentowano szkodliwy wpływ na zdolność zapładniającą plemników, zależy od typu serologicznego. Autorzy użyli zmodyfikowanego barwienia tunel do różnicowania plemników apoptotycznych i nekrotycznych. Zaobserwowany proapoptotyczny i pronekrotyczny efekt leukocytów na gamety męskie zależał od zastosowanego szczepu i był najsilniejszy w obecności szczepu *B. ureolyticus*. Można zatem wnioskować, że poszczególne grupy i typy bakterii z różną siłą aktywują leukocyty, decydując o stopniu nasilenia stresu oksydacyjnego i jego szkodliwym wpływie na plemniki.

W kolejnej publikacji: Fraczek M, Hryhorowicz M, Gill K, Zarzycka M, Gaczarzewicz D, Jedrzejczak P, Bilinska B, Piasecka M, Kurpisz M. The effect of bacteriospermia and leukocytospermia on conventional and nonconventional semen parameters in healthy young normozoospermic males. *J Reprod Immunol.* 2016 (<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.jri.2016.08.006>)

zapropowano analizę szerokiego panelu konwencjonalnych (standardowa analiza seminologiczna) i niekonwencjonalnych (struktury subkomórkowe plemników) parametrów w nasieniu mężczyzn z bezobjawową bakteriospermią i/lub leukocytospermią in situ. Celem było oszacowanie wzajemnych zależności pomiędzy parametrami konwencjonalnymi i niekonwencjonalnymi plemników, w celu identyfikacji mechanizmów odpowiedzialnych za procesy degeneracyjne indukowane w gametach męskich, w różnych fazach infekcji bakteryjnej nasienia. W świetle prezentowanych danych, a także na podstawie wyników uzyskanych w układzie modelowym in vitro, kliniczne znaczenie bakterii często kolonizujących męski układ moczowo-płciowy i jednocześnie uznawanych za potencjalnie niepatogenne w stosunku do gamet męskich, wciąż pozostaje kwestią otwartą. Może to zmienić praktykę postępowania klinicznego.

Kolejna publikacja zaliczona do cyklu: Piasecka M*, Fraczek M*, Gaczarzewicz D, Gill K, Szumala-Kakol A, Kazienko A, Laszczynska M, Lenart S, Beutin L, Kurpisz M. Novel morphological findings of human sperm removal by leukocytes in in vivo and in vitro conditions: preliminary study. *Am J Reprod Immunol.* 2014, 72(4):348-58 podejmuje problem interakcji pomiędzy leukocytami a plemnikami w nasieniu. W piśmiennictwie z jednej strony postuluje się korzystną rolę leukocytów związaną z eliminacją martwych i nieprawidłowych form plemników na drodze „cichej” fagocytozy. Ten rodzaj fagocytozy ma miejsce w nabłonku plemnikotwórczym w czasie spermatogenezy oraz podczas masywnej infiltracji fagocytów po ejakulacji w

żeńskich drogach rodnych. Z drugiej strony, infiltracja zaktywowanych leukocytów, głównie komórek fagocytarnych, do miejsca toczącego się procesu zapalnego, wiąże się z niekorzystną i destrukcyjną aktywnością wobec gamet męskich, związaną z nagromadzeniem w otoczeniu plemników dużych ilości RFT i innych aktywnych biologicznie substancji, uczestniczących i nasilających proces zapalny. Uzyskane i opublikowane w tym doniesieniu wyniki przeprowadzonych badań morfologicznych po raz pierwszy pozwoliły na identyfikację procesu etozy w ludzkim nasieniu zapalnym, zarówno w warunkach in vitro jak i in vivo.

Ostatnia praca zaliczona przez dr Monikę Frączek do osiągnięcia naukowego - Frączek M, Kurpisz M. Mechanisms of the harmful effects of bacterial semen infection on ejaculated human spermatozoa: potential inflammatory markers in semen. *Folia Histochem Cytobiol.* 2015, 53: 201-217 stanowi podsumowanie tez ustalonych przez Autorkę w wyniku badań doświadczalnych.

Podsumowując – cykl badań zatytułowany przez dr Monikę Frączek MECHANIZMY PATOGENETYCZNE INFЕКCJI BAKTERYJNYCH W NASIENIU LUDZKIM. POTENCJALNE BIOMARKERY ZAPALNE W NASIENIU jest niezwykle spójny i konsekwentny. Badania opisane w przytoczonych publikacjach stanowią kolejne kroki w rozwijaniu przez Autorkę koncepcji uszkadzającego płodność męską wpływu infekcji bakteryjnych. Prace integrują wiedzę i praktykę kliniczną z badaniami molekularnymi prowadząc do bardzo istotnych i znakomicie udokumentowanych wniosków klinicznych. Autorka zmienia postrzeganie znaczenia bakterii potencjalnie patogennych, oraz kliniczną ocenę leukospermii. Można bez przesady stwierdzić, że te znakomicie udokumentowane badania będą miały istotny wpływ na leczenie niepłodności i

subpłodności męskiej. Jestem głęboko przekonany, że przedstawione osiągnięcie naukowe spełnia kryteria wyjątkowej innowacyjności i nowatorstwa a także aplikacyjności w praktyce klinicznej.

Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki.

Dr Monika Frączek całe życie zawodowe spędziła w placówce *stricte* naukowej, stąd Jej doświadczenia dydaktyczne są mniejsze niż pracowników uniwersytetów, niemniej wskazała na elementy doświadczenia w uniwersyteckiej dydaktyce przed dyplomowej. Były to zajęcia prowadzone dla studentów II i III roku kierunku Biotechnologia na Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w ramach przedmiotów fakultatywnych: „Inżynieria i terapia komórkowa” oraz „Genetyka rozrodu i komórek macierzystych”

Zdecydowanie większą aktywność dr Monika Frączek miała okazję przejawiać w obszarze dydaktyki podyplomowej i popularyzacji nauki. Przejawem tego były wykłady na konferencjach naukowo-szkoleniowych i działalność popularnonaukowa. Przykłady to poniższe wystąpienia:

1. Morfologiczne i molekularne badania ludzkich ejakulowanych plemników traktowanych *in vitro* wybranymi szczepami bakteryjnymi. II Zimowa Szkoła Krakowskiego Oddziału Towarzystwa Biologii Rozrodu „Centralne i lokalne regulacje procesów rozrodczych”, Zakopane, 18.02.2010
2. „Wolne rodniki tlenowe – badania *in vitro*” Symposium Naukowo-Szkoleniowe, 12 Dzień Andrologii, Kazimierz Dolny n. Wisłą, 09.04.2010

3. "Markery stanu zapalnego nasienia – uzupełniająca analiza seminologiczna"

Symposium Naukowo-Szkoleniowe, 15 Dzień Andrologiczny „Zdrowie mężczyzn w różnych okresach życia”, Międzyzdroje, 21.09.2013

Działalność popularnonaukowa

1. Organizacja i prowadzenie warsztatów pt.: „Plemnik pod lupą” na XVII Poznańskim Festiwalu Nauki i Sztuki, 08.04.2014

2. Organizacja i prowadzenie warsztatów pt.: „Plemnik doskonały” na XVIII Poznańskim Festiwalu Nauki i Sztuki, 14.04.2015

3. Organizacja i prowadzenie warsztatów pt.: „Plemnikowy zawrót głowy” na XIX Poznańskim Festiwalu Nauki i Sztuki, 18.04.2016

Dr Monika Frączek była promotorem pracy magisterskiej mgr Katarzyny Gulczyńskiej pt.: „Wpływ stanów zapalnych w męskim układzie moczowo-płciowym na materiał genetyczny plemników” – Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu 2007, a także opiekunem studentów odbywających praktyki zawodowe i staże krótkoterminowe.

Szczególnie należy podkreślić opublikowanie kilkunastu komentarzy dla grupy „Faculty of 1000 in Medicine” w dziedzinie urologii (sekcja: niepłodność męska), na temat kierunków badań we współczesnej andrologii.

Doskonaląc swoje umiejętności naukowe dr Monika Frączek odbyła szereg kursów i staży naukowych w tym: miesięczny staż w Zakładzie Farmacji Klinicznej Akademii Medycznej w Poznaniu poświęcony zapoznaniu się z

techniką wysokociśnieniowej chromatografii cieczerw (Waters HPLC System), miesięczny staż w Zakładzie Immunologii Klinicznej Akademii Medycznej w Poznaniu - zapoznanie się z techniką cytometrii przepływowej (Beckton Dickinson FAC/SCAN Flow Cytometer), szkolenie z obsługi cytometru przepływowego Cell LabQuanta SC MPL firmy Beckman Coulter Sztokholm, szkolenie organizowane przez European Society of Human Reproduction and Embriology "Sperm DNA: organization, protection and vulnerability. From basic science to clinical applications", warsztaty poświęcone technikom zapłodnienia in vitro „Zastosowanie technologii IMSI w leczeniu niepłodności”, połączone z prezentacją systemu Leica AM 6000 Międzyzdroje, Sympozjum Naukowo-Szkoleniowe. 15 Dzień Andrologiczny. Warsztaty „Zastosowanie wybranych metod oceny plemników (morfologia, żywotność, fragmentacja DNA) w mikroskopie świetlnym”, szkolenie dla osób odpowiedzialnych za planowanie i wykonywanie procedur i doświadczeń na zwierzętach laboratoryjnych, Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych POLLASA.

Przejawem uznania dla dorobku i pozycji naukowej dr Moniki Frączek było zapraszanie Jej do recenzowania prac składanych do światowych czasopism naukowych , w tym

1. Journal of Reproductive Immunology (IF₂₀₁₅=3,202; MNiSW=35) – 4 publikacje
2. Scientific Reports (IF₂₀₁₅=5,228; MNiSW=40) – 1 publikacja
3. Andrologia (IF₂₀₁₅=1,441; MNiSW=15) – 2 publikacje
4. Asian Journal of Andrology (IF₂₀₁₅=2,644; MNiSW=30) – 1 publikacja

5. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (IF₂₀₁₅=0,769; MNiSW=15)
– 1 publikacja

6. Postępy Andrologii On-line – 3 publikacje

Dr Monika Frączek była kierownikiem 2 grantów:

2010-2013 projektu badawczego własnego przyznanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Wpływ czynników stanu zapalnego w układzie in vivo i in vitro na struktury subkomórkowe plemnika ze szczególnym uwzględnieniem stanu funkcjonalnego mitochondriów” (MNiSW N N407 283539)

2016-2019 projektu badawczego OPUS przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki „Weryfikacja hipotezy stresu oksydacyjnego, apoptozy i czynnika immunologicznego jako mechanizmów odpowiedzialnych za niską jakość nasienia u mężczyzn narażonych na szok temperaturowy jąder” (NCN 2015/19/B/NZ5/02241)

. oraz głównym wykonawcą lub wykonawcą w 10 innych projektach.

Osiągnięcia naukowe dr Moniki Frączek były honorowane polskimi i międzynarodowymi wyróżnieniami w tym:

The 2006 NIH Trainee Travel Award oraz The 2006 Lalor Foundation Travel Award – dwie nagrody przyznane przez Amerykańskie Towarzystwo Andrologiczne za prezentację plakatową na 31. Konferencji Amerykańskiego Towarzystwa Andrologicznego w Chicago, 2006

Wyróżnienie przyznane przez Europejskie Towarzystwo Immunologii Rozrodu za prezentację ustną na 5. Europejskim Kongresie Immunologii Rozrodu w Berlinie, 2007

Nagroda im. Wacława Mayzla przyznana przez Towarzystwo Biologii Komórki oraz firmę Roche Diagnostics Polska sp. z o.o. za najlepsze publikacje opublikowane w roku 2012 w czasopiśmie Postępy Biologii Komórki, 2013

Podsumowując stwierdzam, że aktywność naukowa i popularyzatorsko-dydaktyczna dr Moniki Frączek jest intensywna i pozostaje na bardzo wysokim poziomie. W moim głębokim przekonaniu odpowiada on w pełni wymaganiom ustawowym stawianym kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.

W oparciu o wyrażoną powyżej bardzo wysoką ocenę wskazanego osiągnięcia naukowego i całokształtu osiągnięć naukowych (wyrażonego w przyjętych parametrach bibliometrycznych takich jak: IF, liczba cytowań i liczba Hirscha) oraz dydaktyczno-popularyzatorskich wnioskuję do Wysokiej Komisji o nadanie doktor nauk medycznych Monice Frączek stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Kierownik I Kliniki Położnictwa i Ginekologii
Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego


prof. dr hab. n. med. Grzegorz Jakiel