



dr hab. n. med. Małgorzata Kapral
Katedra i Zakład Biochemii
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Sosnowiec, 09.02.2024 r.

RECENZJA

dorobku naukowego, osiągnięcia naukowego oraz działalności dydaktycznej i organizacyjnej Pani dr n. med. Marty Anny Olszewskiej, w związku z ubieganiem się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

1. Dane biograficzne

Pani dr n. med. Marta Olszewska w 2006 roku ukończyła studia na kierunku biotechnologia, które odbyła na Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu (od 2008 r. Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu). Dyplom magistra inżyniera biotechnologii uzyskała na podstawie pracy pt. „Topologia chromosomów w jądrze komórkowym ludzkiego plemnika” wykonanej w Zakładzie Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych Instytutu Genetyki PAN w Poznaniu, której promotorem był prof. dr hab. Maciej Kurpisz. Po ukończeniu studiów doktoranckich w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN, w roku 2014 obroniła pracę doktorską z zakresu nauk medycznych, w dyscyplinie biologia molekularna pt.: „Analiza cytogenetyczna plemników i komórek gametogenicznych u nosicieli translokacji chromosomowych wzajemnych (TCW) z niepowodzeniami rozrodu” wykonaną pod kierunkiem Pana prof. Macieja Kurpisza. Rozprawa ta została wyróżniona przez Radę Naukową Instytutu Genetyki Człowieka PAN. W 2018 roku dr Olszewska ukończyła podyplomowe studium przygotowania pedagogicznego w zakresie dydaktyki medycznej na Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu.

Od 2010 roku Pani Doktor jest pracownikiem Instytutu Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu. W latach 2010-2014 była zatrudniona na stanowisku biologa w Zakładzie Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych, a następnie awansowała na stanowisko adiunkta. Od października 2021 roku pełni funkcję kierownika Zespołu Badawczego Genetyki Plemnika.

2. Ocena osiągnięcia naukowego zgłoszonego do postępowania habilitacyjnego

Osiągnięcie naukowe, stanowiące podstawę ubiegania się o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego, pt.: „**Cytogenetyczne i epigenetyczne aspekty męskiej niepłodności**” obejmuje cykl 6 powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w latach 2014-2023 w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, tj. *Reproduction* (IF = 3,174), *Scientific Reports* (IF = 5,228), *International Journal of Molecular Sciences* (IF₂₀₂₀ = 5,923; IF₂₀₂₂ = 6,208), *Asian Journal of Andrology* (IF = 3,259) oraz *Basic and Clinical Andrology* (IF = 2,886). Łączny współczynnik oddziaływania Impact Factor tych publikacji wynosi 26,678, natomiast punktacja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, (MNiSW) oraz Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) wynosi 465. Pięć artykułów stanowią oryginalne prace doświadczalne i Habilitantka jest w nich pierwszym autorem, natomiast jeden artykuł, w którym Pani Doktor jest drugim autorem jest pracą poglądową. W przypadku jednego artykułu (oznaczonego P5) Habilitantka jest autorem współkorespondującym, z kolei w przypadku pracy P6 jest autorem korespondującym. W przedstawionym osiągnięciu naukowym dr n. med. Marta Olszewska odegrała wiodącą rolę. Z dołączonych Oświadczeń Habilitantki i współautorów wynika, że dr Olszewska była autorką koncepcji badań, opracowała projekty i plany pracy oraz brała czynny udział w wykonaniu eksperymentów, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptów. Ponadto pozyskała środki granowe konieczne do przeprowadzenia badań i publikację artykułów oznaczonych jako P5 i P6.

Obecnie niepłodność par w okresie rozrodczym stanowi poważnym problemem zdrowotny i według Światowej Organizacji Zdrowia jest zaliczana do chorób społecznych. W przypadku znacznego odsetka par jest to spowodowane zaburzeniami płodności u mężczyzn. Występowanie niepowodzeń rozrodu u mężczyzn może być determinowane przez czynniki środowiskowe oraz genetyczne, takie jak aberracje chromosomowe lub mutacje w genach kodujących białka odpowiedzialne za proces spermatogenezy. Ponadto zmiany epigenetyczne, do których zalicza się metylację plemnikowego DNA, czy modyfikacje potranslacyjne histonów (metylacja i acetylacja) mogą wpływać na zmianę ekspresji genów zaangażowanych w przebieg spermatogenezy, co z kolei może mieć wpływ na jakość i ilość nasienia. Dane literaturowe wskazują, że zaburzenia integralności chromatyny plemników, np. fragmentacja DNA, czy obniżony poziom protaminacji mogą również spowodować obniżenie płodności u mężczyzn. Zarówno zmiany genetyczne, jak i epigenetyczne w męskich komórkach

rozrodczych mogą wpływać na rozwój zarodka, przebieg ciąży u kobiety oraz na występowanie wad rozwojowych u dziecka. Dlatego też badania podjęte przez Habilitantkę mające na celu wykazanie roli czynników cytogenetycznych i epigenetycznych w etiopatogenezie niepłodności męskiej wydają się bardzo aktualne i mogą mieć praktyczne zastosowanie. Kompleksowa analiza molekularna chromosomów i chromatyny plemników pochodzących od niepłodnych mężczyzn pozwoliła Habilitantce na zbadanie jak na przebieg spermatogenezy wpływają kariotyp, zmiany wewnątrzjądrowej organizacji jądra komórkowego plemników oraz zmiany w integralności jego chromatyny. Ponadto Pani Doktor zbadła efekt zmian poziomu metylacji i hydroksymetylacji plemnikowego DNA na przebieg procesu spermatogenezy.

W pracy P1 Habilitantka opisała przypadek nosiciela kompleksowej rearanżacji chromosomowej (KRC) $t(6;10;11)$ o potwierdzonej niepłodności i obniżonej ruchliwości plemników. Na podstawie barwienia GTG, metod FISH i mFISH zostały dokładnie oznaczone punkty złamań chromosomów, a także określono odsetek plemników niezrównoważonych genetycznie. Wysoka częstość występowania plemników niezrównoważonych genetycznie u analizowanego nosiciela KRC stanowiła prawdopodobną przyczynę zatrzymania rozwoju zarodków w procedurze zapłodnienia pozaustrojowego. Dodatkowo zbadano poziom występowania aneuploidii chromosomów: 13, 15, 18, 21, 22, X oraz Y, która może być związana z niepowodzeniem rozrodu.

W pracy P2 opublikowanej w 2015 roku w Scientific Reports, przedstawiono analizę przypadku nosiciela chromosomu markerowego 47,XY,+mar. Celem badań było określanie różnic w wewnątrzjądrowej lokalizacji chromosomów: 15, 18, X, Y oraz chromosomu markerowego w plemnikach badanego pacjenta pochodzących z tego samego ejakulatu. Należy podkreślić, że było to pierwsze doniesienie literaturowe opisujące to zagadnienie. Obecność chromosomu markerowego stwierdzono w ok. 51% plemników w ejakulacie, co wskazywało na segregację meiotyczną w proporcji zbliżonej do 1:1. Ponadto obecność chromosomu markerowego spowodowała zmianę lokalizacji chromosomów płci, co może zaburzać ich rolę w pierwszych etapach zapłodnienia. Wspólna lokalizacja chromosomów płci i chromosomu markerowego może sugerować ich asocjacje podczas stadium pachytenu i prowadzić do zaburzeń spermatogenezy, na co wskazuje obniżona ilość plemników w nasieniu pacjenta. Także stwierdzony podwyższony poziom aneuploidii dla chromosomów: 13, 15, 18, 21 oraz 22 może wpływać negatywnie na spermatogenezę lub niepowodzenia rozrodu.

Celem kolejnej pracy (P3) była szczegółowa charakterystyka kompleksowej rearanżacji chromosomowej typu II pomiędzy chromosomami 1 (dwa punkty złamań) i 7 (jeden punkt

złamania). Badanie dotyczyło rodzinnej niepłodności i zostało przeprowadzone u dwóch braci i matki. Wcześniejsze badania cytogenetyczne (barwienie GTG, FISH, mFISH, barwienia kompleksu synaptonemalnego oraz badanie wzoru segregacji mejotycznej) poszerzono o mapowanie punktów złamań chromosomów (metodą BAC-FISH), analizę całego genomu z użyciem mikromacierzy aCGH, co pozwoliło na stwierdzenie, że liczba kopii genów nie odgrywa istotnej roli w zahamowaniu spermatogenezy. Stworzono również model 3D kompleksu synaptonemalnego.

W kolejnym etapie badań Habilitantka analizowała poziom metylacji DNA (5mC) w plemnikach nosicieli różnych aberracjami strukturalnych chromosomów (translokacje chromosomowe wzajemne, Robertsonowskie, KRC oraz inwersje chromosomowe) i jego korelację z integralnością chromatyny w tych komórkach. U nosicieli aberracji chromosomowych stwierdzono, że wzrostowi stopnia deprotaminacji chromatyny oraz fragmentacji DNA plemnikowego towarzyszy hipometylacja DNA, natomiast w grupie kontrolnej wykazano hipermetylację. Badania te potwierdziły, że zaburzenia poziomu metylacji lub wzoru metylacji w plemnikach mogą być jedną z przyczyn męskiej niepłodności lub negatywnie wpływać na aktywację genów na wczesnym etapie rozwoju zarodka.

Celem kolejnej pracy (P5) było wykazanie potencjalnych korelacji pomiędzy stopniem integralności chromatyny plemnika a poziomem metylacji (5mC) i hydroksymetylacji (5hmC) DNA plemnikowego w odniesieniu do jakości nasienia pacjentów o prawidłowym kariotypie, ale z niepowodzeniami rozrodu i o obniżonej koncentracji i/lub ruchliwości plemników. W badaniach zastosowano opracowany przez Habilitantkę i współpracowników sekwencyjny algorytm barwień pozwalający na ocenę zmian w tym samym plemniku, tj. najpierw analizę stopnia protaminacji chromatyny, a następnie w tym samym miejscu immunofluorescencyjne badanie poziomów 5mC i 5hmC. Pozwoliło to na oznaczenie zmian epigenetycznych w trzech frakcjach plemnikowych o różnym stopniu protaminacji chromatyny. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały związek stopnia protaminacji chromatyny i poziomów badanych epiznaczyków w grupie kontrolnej, a także jego brak w przypadku pacjentów o obniżonych parametrach nasienia. Ponadto w grupie badanej wykazano korelację poziomu metylacji i hydroksymetylacji z ruchliwością i morfologią plemników.

Ostatnia praca cyklu opisuje rolę czynników epigenetycznych w przebiegu spermatogenezy, rozwoju komórek płciowych oraz ich znaczenie w aspekcie zaburzeń płodności u mężczyzn.

Podsumowując, w efekcie przeprowadzonych przez Habilitantkę badań scharakteryzowano unikatowe rearażacje chromosomowe na poziomie molekularnym. Wykazano negatywny wpływ występowania aberracji chromosomowych na przebieg spermatogenezy i organizację jąder komórkowych plemników. U nosicieli aberracji chromosomowych wykazano obniżone parametry nasienia. Potwierdzono występowanie wysokiej zmienności międzyosobniczej u pacjentów z niepowodzeniami rozrodu, niezależnie od kariotypu. Wykazano związek poziomu metylacji i hydroksymetylacji DNA plemnikowego ze stopniem protaminacji chromatyny oraz z ruchliwością i morfologią plemników u pacjentów o obniżonych parametrach nasienia.

Badania stanowiące cel osiągnięcia naukowego Habilitantki oceniam wysoko i uważam, że wyniki te wnoszą do nauk medycznych i nauk o zdrowiu istotne elementy poznawcze oraz prowadzą do ich rozwoju. Publikacje Habilitantki wskazują na jej dobre przygotowanie teoretyczne i opanowanie warsztatu badawczego, zdolność do współpracy oraz tworzenia i kierowania zespołami badawczymi, co jest wymagane od samodzielnego pracownika naukowego. Uzyskane wyniki były również podstawą do kontynuowania dalszych badań dotyczących lokalizacji chromosomów w plemnikach charakteryzujących się różnym stopniem integralności chromatyny i poziomem markerów epigenetycznych.

3. Ocena dorobku naukowo-badawczego

Główne zainteresowania badawcze dr Marty Olszewskiej związane są z analizą organizacji materiału genetycznego i proteomu plemników oraz cytogenetycznym i molekularnym podłożem męskiej niepłodności. Ponadto brała również udział w badaniach komórek macierzystych mięśnia sercowego u myszy w aspekcie zmian pozawałowych.

Dorobek naukowy dr Olszewskiej jest znaczący, obejmuje ogółem 37 prac, w tym 25 prac oryginalnych i 9 poglądowych, ich sumaryczny współczynnik oddziaływania IF jest bardzo wysoki i wynosi 154,938, a punktacja MNiSW i MEiN – 1984. Wartość czynnika IF przed uzyskaniem stopnia doktora wynosiła 15,164, a po jego uzyskaniu wyniosła aż 139,774, co wskazuje na znaczący rozwój Habilitantki. Jest cenionym naukowcem, o czym świadczą liczne cytacje jej publikacji. Prace autorstwa dr Olszewskiej według bazy Web of Science, były cytowane 485 razy (436 bez autocytowań), natomiast według bazy Scopus 524 razy (476 bez autocytowań). Indeks Hirscha wynosi 11 (stan na dzień 16.05.2023 r.). Dr Marta Olszewska bierze aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych, gdzie zaprezentowała 64 doniesienia, w tym 26 na konferencjach zagranicznych.

W trakcie swojej pracy zawodowej Habilitantka współpracowała z naukowcami pracującymi w jednostkach zagranicznych i krajowych, m. in. na Uniwersytecie w Pittsburghu (USA), Uniwersytecie w Bergen (Norwegia), Uniwersytecie Ondokuz Mayiz w Samsun (Turcja), w Ukraińskiej Akademii Nauk Medycznych we Lwowie oraz w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, Ginekologiczno-Położniczym Szpitalu Klinicznym Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, w Zakładzie Genetyki Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku i Katedrze Biochemii i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Na uwagę zasługuje fakt, że pani dr Marta Olszewska uczestniczyła w realizacji wielu projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, w których pełniła funkcję wykonawcy. Była również wykonawcą zagranicznego projektu grantowego: „Genetic Basis of Oligozoospermia in Infertile Males” finansowanego przez National Institute of Health (NIH), NICHD, USA, którego kierownikiem był prof. Alexander N. Yatsenko z Uniwersytetu w Pittsburghu. W latach 2016-2020 kierowała projektem finansowanym przez NCN w ramach konkursu Sonata. A obecnie kieruje projektem grantowym Sonata Bis „Badanie lokalizacji chromosomów w ludzkich plemnikach o różnym stopniu integralności chromatyny oraz różnicach w poziomie markerów epigenetycznych, z uwzględnieniem kariotypów oraz poszczególnych frakcji plemnikowych”.

W latach 2007 – 2013 Habilitantka odbyła staże naukowe w krajowych i zagranicznych instytucjach, które miały na celu doskonalenie warsztatu pracy i nawiązanie współpracy badawczej. W 2007 roku odbyła szkolenie w firmie MetaSystems w Altlußheim w Niemczech z zakresu technik fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH). W ramach stypendium Erasmus+ Habilitantka odbyła dwa krótkoterminowe staże szkoleniowe “Mobility Agreement Staff Mobility For Teaching”. Pierwszy, w roku 2021 na Uniwersytecie Ondokuz Mayis w Samsun w Turcji, a drugi w roku 2023 na Uniwersytecie w Bergen w Norwegii. W latach 2022-2023 odbyła trzymiesięczny staż w Katedrze Biochemii i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, który obejmował praktyczną naukę przygotowania i barwienia mrożonych preparatów tkanek mysich.

Habilitantka była członkiem komitetów naukowych i komitetów organizacyjnych 3 konferencji: X Interdyscyplinarnej Konferencji Naukowej TYGIEL 2018 „Interdyscyplinarność kluczem do rozwoju”, 17-18 marca 2018 w Lublinie; IX Zjazdu Towarzystwa Biologii Rozrodu (TBR), 2-4 września 2021 w Poznaniu oraz mini-symposium

Pierwsza Poznańska TBR-ówka pt.: „Model myszy w badaniach niepłodności męskiej”;
20 marca 2023 w Poznaniu.

Dr Marta Olszewska jest również recenzentem i ekspertem Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (NCBR), Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (NAWA), Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (FNP) oraz Agencji Badań Medycznych (ABM). Dotychczas Habilitantka wykonała ponad 90 recenzji artykułów naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym z listy Journal Citation Reports (JCR), m. in.: Hum Reprod, PLoS One, Reprod Biomed Online, Reprod Biol, Asian J Androl, J Assist Reprod Genet, BMC Med Genet, BMC Genet, Andrology, Andrologia, Fertil Steril, Cytogenet Genome Res, Sci Reports, Aging, Int J Mol Sci, Biomolecules, Genes, Cells, Front Genet oraz Clin Genet. Ponadto dr Olszewska pełniła funkcje Associate Editor, Topic Editor lub Academic Editor w takich czasopismach jak: Central European Journal of Biology, Biomolecules, Frontiers in Genetics, Open Medicine, Andrologia i Human Mutation.

Za swoją działalność naukową Habilitantka została uhonorowana międzynarodowymi i krajowymi nagrodami, w tym za najlepszy artykuł w Asian Journal of Andrology, za prace naukowe w wysoko punktowanych czasopismach oraz za realizację projektu badawczego finansowanego przez NCN.

Dokonując analizy dorobku naukowego Habilitantki można stwierdzić, że jest on spójny problemowo i wykazuje aspekt nie tylko poznawczy, ale i praktyczny, co może znaleźć zastosowanie w poradnictwie genetycznym zaburzeń płodności. Należy podkreślić wykorzystanie nowoczesnej i różnorodnej metodyki badań (FISH, sekwencjonowanie całogenomowe WGS i eksomowe WES, mikromacierze aCGH, sekwencjonowanie RNA pojedynczych komórek scRNAseq). Publikacje powstałe na podstawie przeprowadzonych eksperymentów świadczą o ukierunkowaniu Jej zainteresowań i stanowią znaczący wkład w rozwój nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

4. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Pani dr Marta Olszewska jako pracownik naukowy Instytutu Polskiej Akademii Nauk nie ma obowiązku prowadzenia zajęć dydaktycznych, dlatego należy podkreślić jej zaangażowanie w ten rodzaj działalności. Habilitantka prowadziła ćwiczenia laboratoryjne z cytogenetyki plemnika oraz inżynierii komórkowej dla studentów kierunku biotechnologia medyczna UM w Poznaniu. Była promotorem pracy magisterskiej studentki kierunku biotechnologia z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu i 2 prac licencjackich wykonanych

przez studentów kierunku biotechnologia z Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. Ponadto sprawowała opiekę naukową w trakcie realizacji prac dyplomowych, praktyk i staży zawodowych łącznie 21 studentów Uniwersytetu im. A. Mickiewicza, Uniwersytetu Przyrodniczego oraz Uniwersytetu Medycznego (w tym 6 magistrantów, 3 licencjatów, 9 stażystów i 3 praktykantów). Od października 2021 r. pełni funkcję promotora pomocniczego słuchaczki Poznańskiej Szkoły Doktorskiej Instytutów Polskiej Akademii Nauk, która wykonuje swoją pracę w ramach projektu grantowego Sonata Bis kierowanego przez Habilitantkę.

Pani dr Olszewska bierze aktywny udział w przedsięwzięciach popularyzujących naukę. W 2020 r. była laureatką 5. Edycji Polskiej Nagrody Inteligentnego Rozwoju, w kategorii: Naukowiec Przyszłości. W 2021 r. podczas Genetic Training Week wygłosiła wykłady dla doktorantów z różnych części świata, mające na celu zaprezentowanie osiągnięć Zakładu Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych.

Dodatkowo Kandydatka bierze udział w kursach i szkoleniach mających na celu podnoszenie kwalifikacji zawodowych doskonalących warsztat naukowo-badawczy oraz umiejętności kierowania zespołem badawczym.

Jest członkiem europejskich i polskich towarzystw naukowych: European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), European Cytogenetic Association (ECA) oraz Polskiego Towarzystwa Andrologiczne (PTA), Towarzystwa Biologii Rozrodu (TBR), Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka (PTGC) i Polskiego Towarzystwa Zwierząt Laboratoryjnych (PolLASA). Od 2021 r. pełni funkcję Sekretarza Poznańskiego Oddziału Towarzystwa Biologii Rozrodu.

Od października 2021 r. dr Marta Olszewska jest członkiem programu COST ANDRONET (CA20119 – European andrology network – research coordination, education and public awareness), którego celem jest multidyscyplinarna współpraca między ośrodkami andrologicznymi oraz propagowanie wiedzy w krajach europejskich o mniej rozwiniętych badaniach w dziedzinie męskiej niepłodności.

Od 2019 roku Habilitantka jest członkiem Rady Naukowej Instytutu Genetyki Człowieka PAN.



5. Podsumowanie i wnioski końcowe

Podsumowując, całość dorobku naukowego, zaangażowanie w działalność dydaktyczną, jak również organizacyjną wskazuje na dojrzałość naukową oraz samodzielność dr Marty Olszewskiej, co spełnia w moim przekonaniu wymagania stawiane przez stosowne przepisy prawne kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego. Prowadzone przez Habilitantkę badania i uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w rozwój nauk medycznych. Wnioskuje zatem o dopuszczenie dr Olszewskiej do dalszych etapów związanych z nadaniem stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Małgorzata Kaprał

dr hab. n. med. Małgorzata Kaprał