

Dr hab. Sabina Kędzierska-Mieszkowska, prof. UG
Katedra Biochemii Ogólnej i Medycznej
Wydział Biologii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 59
80-308 Gdańsk
tel: (58) 5236061
e-mail: sabina.kedzierska-mieszkowska@ug.edu.pl

Gdańsk, 26.06.2019 r.

Ocena osiągnięcia naukowego, pozostałego dorobku naukowego oraz działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej Pani dr Joanny Liss w związku z ubieganiem się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie biologia

Przebieg rozwoju kariery naukowej

Pani dr Joanna Liss ukończyła studia na Wydziale Biologii Uniwersytetu Gdańskiego w 1995 roku, uzyskując tytuł magistra biologii w oparciu o pracę magisterską pt.: "Próby ekspresji genu *Rz* bakteriofaga λ w wybranych systemach ekspresyjnych", którą przygotowała pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Aliny Taylor. W latach 1995-2001 Pani dr Liss była zatrudniona na stanowisku asystenta w Samodzielnej Pracowni Endokrynologii i Diagnostyki Laboratoryjnej Instytutu Położnictwa i Chorób Kobiecych Akademii Medycznej w Gdańsku. W pracowni tej pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Czesława Wójcikowskiego wykonała swoją pracę doktorską pt.: "Wstępna ocena wpływu infekcji HPV na rozwój raka szyjki macicy na podstawie obecności DNA wirusowego w zainfekowanych tkankach" na podstawie, której w 2000 roku uzyskała stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej. Ponadto w latach 1999-2001 Habilitantka była zatrudniona na stanowisku młodszego asystenta w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym Nr 2 Akademii Medycznej w Gdańsku. Od 2001 roku do dziś Pani dr Joanna Liss jest kierownikiem Laboratorium In Vitro i Banku Komórek Rozrodczych i Zarodków, INVICTA, a od lutego 2018 roku jest także zatrudniona na stanowisku adiunkta w Katedrze Biologii i Genetyki Medycznej Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego. W 2005 roku Habilitantka rozpoczęła badania nad zastosowaniem nowoczesnych metod biologii molekularnej w preimplantacyjnej

diagnostyce genetycznej (ang. *preimplantation genetic diagnosis*, PGD). Dążąc do ciągłego podnoszenia swoich kwalifikacji i umiejętności uczestniczyła w licznych kursach zawodowych w ośrodkach krajowych, jak i zagranicznych.

Pani dr Liss jest wieloletnim członkiem zarządu Polskiego Towarzystwa Medycyny Rozrodu i Embriologii, a od 2014 roku jest również przewodniczącą sekcji Embriologicznej. Ponadto Habilitantka jest wieloletnim członkiem Europejskiego Towarzystwa Rozrodu Człowieka i Embriologii (ESHRE), Międzynarodowego Towarzystwa Diagnostyki Preimplantacyjnej (PGDIS), Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej oraz Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka. Bierze też udział w pracach 2 zespołów eksperckich, w tym ESHRE Working Group for the Embryo Biopsy.

Do oceny przedstawiono następujące materiały:

1. Autoreferat w języku polskim i angielskim, który zawiera:

- informację o dotychczasowym zatrudnieniu Pani dr Joanny Liss w jednostkach naukowych i uzyskanych stopniach naukowych,
- wykaz publikacji składających się na osiągnięcie naukowe, będące podstawą postępowania habilitacyjnego, oraz omówienie celu i wyników przedstawionych prac,
- oszacowanie udziału Habilitantki w powstanie tych prac,
- wykaz publikacji, które nie wchodzą w skład osiągnięcia naukowego i ich zakres tematyczny.

2. Dołączono także:

- kopie prac naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego dr Liss,
- oświadczenia współautorów publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe,
- szczegółowy opis osiągnięć naukowych, dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzatorskich,
- kopię dyplomu doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej.

Stwierdzam, że przekazana mi dokumentacja wniosku jest kompletna i spełnia formalne wymogi niezbędne do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

Ocena osiągnięcia naukowego zgłoszonego jako podstawa w postępowaniu habilitacyjnym zatytułowanym „Opracowanie i zastosowanie metod biologii molekularnej w diagnostyce genetycznej komórek rozrodczych i zarodków”

Na osiągnięcie naukowe Pani dr Joanny Liss składa się cykl sześciu publikacji, w tym cztery oryginalne prace eksperymentalne, jeden opis przypadku (*case report*) i jedna praca przeglądowa. Wszystkie prace są współautorskie (3-7 autorów), tworzą spójną tematycznie całość i zostały

opublikowane w latach 2008-2018 w czterech czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR), tj.: *Fertility and Sterility* (2 prace), *Reproduction, Fertility and Development* (1 praca), *Ginekologia Polska* (2 prace) oraz *Folia Histochemica et Cytobiologica* (1 praca). **Sumaryczna wartość współczynnika oddziaływania przedstawionych prac (IF) wynosi 12,701** (138 punktów MNiSW), co spełnia ogólne kryteria przyjęte w postępowaniu habilitacyjnym. W pięciu publikacjach Pani dr Liss jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym w trzech. Habilitantka ocenia swój udział w powstanie tych prac na 45-70%. Oświadczenia współautorów dotyczące ich udziału w powstaniu prezentowanych publikacji oraz wkład własny Habilitantki wskazują na to, że Jej udział w powstaniu większości prezentowanych prac był istotny, a w przypadku jednej pracy- wiodący. Natomiast w pracy Łukaszuk i wsp. (2015) Pani dr Liss jest piątym autorem z udziałem 15%. Dlatego też mam wątpliwości, czy publikacja ta powinna być włączona do cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe. Niemniej jednak Pani dr Liss uczestniczyła zarówno w badaniach, jak i w opracowaniu manuskryptu publikacji (przygotowała opis zastosowanych metod), zebrała dane i przeprowadziła analizy statystyczne, które są ważną częścią procesu badawczego.

Publikacje przedstawione jako osiągnięcie naukowe opisują efekty wieloletnich badań Habilitantki nad wykorzystaniem znanych metod molekularnych w preimplantacyjnej diagnostyce genetycznej (PGD) w celu zminimalizowania ryzyka wystąpienia u potomstwa poważnej wady genetycznej i zwiększenia szansy na narodziny zdrowego dziecka w przypadku rodziców obciążonych genetycznie. Należy wspomnieć o tym, że PGD pozostaje w ścisłym związku z technikami wspomaganego rozrodu. Mam drobną uwagę, prace stanowiące podstawę habilitacji należałoby uszeregować w innym porządku chronologicznym, tj. od najstarszej, a nie najnowszej publikacji, czyli w kolejności prezentowania tych prac w Autoreferacie i omawiania ich wyników.

W najstarszej pracy, opublikowanej w *Fertility and Sterility* w 2008 roku (IF 4,167) i stanowiącej opis przypadku, przedstawiono pierwszą próbę zastosowania PGD w kierunku wykrycia zespołu Smitha, Lemlego i Opita (SLOS), tj. choroby metabolicznej, dziedziczonej w sposób autosomalny recesywny i charakteryzującej się mnogimi wadami wrodzonymi. Jej przyczyną są mutacje w genie *DHCR7*, który koduje reduktazę 7-dehydrocholesterolu uczestniczącą w biosyntezie cholesterolu, niezbędnego do prawidłowego rozwoju zarodka i płodu. Wnikliwej analizie zostały poddane 2 pary, u których ryzyko wystąpienia zespołu SLOS u potomstwa było bardzo wysokie ze względu na potwierdzoną obecność mutacji w genie *DHCR7* u obojga potencjalnych rodziców. Habilitantka ma znaczący udział w opracowaniu skutecznej metody diagnostyki zespołu SLOS na etapie preimplantacyjnym. Swoje badania ukierunkowała na wykrywanie obecności punktowej mutacji W151X typu nonsensownego w sekwencji genu *DHCR7*. Kluczowym elementem diagnostyki było przygotowanie analizowanego materiału, który stanowiła

pojedyncza komórka - ciało kierunkowe lub pojedynczy blastomer zarodka. Dlatego też Pani dr Liss musiała zadbać o to, aby wybrana metoda diagnostyczna charakteryzowała się wysoką czułością i specyficznością. Cel został osiągnięty. Dzięki opracowanej przez nią metodzie nested PCR-RFLP, łączącej amplifikację materiału genetycznego z analizą polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych DNA, udało się wyeliminować ryzyko przeniesienia poważnej wady genetycznej na potomstwo i uzyskać ciążę u wspomnianych wyżej par zakończone urodzeniem zdrowych dzieci. Było to niezwykle osiągnięcie, ponieważ zastosowana procedura diagnostyki zespołu SLOS zakończyła się sukcesem po raz pierwszy na świecie. W pracy tej Pani dr Liss jest pierwszym autorem oraz autorem korespondującym, a swój udział szacuje na 50%. Wyniki badań zaprezentowanych w pracy zostały nagrodzone przez Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku nagrodą zespołową II stopnia, co dodatkowo podkreśla ich duże znaczenie dla rozwoju PGD.

Praca, opublikowana w 2010 roku w czasopiśmie Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników, Ginekologia Polska (IF 0,367), stanowi kontynuację badań Habilitantki nad projektowaniem czułych i specyficznych metod diagnostycznych, które znalazłyby zastosowanie w badaniach pojedynczych komórek w przypadku kolejnych jednostek chorobowych. Tym razem Pani dr Liss skupiła się na diagnostyce rdzeniowego zaniku mięśni, czyli SMS (*ang. spinal muscular atrophy*). Do identyfikacji delecji w genie *SMN1*, podobnie jak w przypadku diagnostyki zespołu SLOS, została wykorzystana technika nested PCR w połączeniu z analizą RFLP. Ponownie udało się zdiagnozować problem i wyeliminować poważny defekt genetyczny w badanych zarodkach i uzyskać ciążę, które zakończyły się urodzeniem zdrowych dzieci, co potwierdziło wysoką skuteczność zastosowanej diagnostyki preimplantacyjnej chorób jednogenowych. Należy podkreślić, że udział Habilitantki w opracowaniu testów diagnostycznych, które umożliwiły przeprowadzenie diagnostyki preimplantacyjnej u par z obciążonym wywiadem genetycznym, jest znaczący. Dr Liss opracowała m.in. metodę lizy pojedynczej komórki podlegającej badaniu, zaprojektowała reakcję nested PCR oraz startery, które umożliwiły wydajną amplifikację fragmentu genu *SMN1* obejmującego miejsce delecji. W tej pracy Pani dr Liss jest zarówno pierwszym, jak i korespondencyjnym autorem z udziałem szacowanym na 70%.

Praca, która ukazała się w Folia Histochemia et Cytobiologica (2015) (IF 1,06), dotyczy diagnostyki chromosomowych aberracji strukturalnych i wykrywania nosicielstwa translokacji wzajemnych zrównoważonych (RCP) oraz typu Robertsonowskiego (RT). Poważne wady kariotypu potencjalnych rodziców mogą być przyczyną poronienia we wczesnej fazie ciąży, dlatego też stały się one przedmiotem dalszych badań Habilitantki. W celu oceny aberracji chromosomowych Pani dr Liss wykorzystwała metodę fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ, FISH, którą zmodyfikowała. Ponadto, aby przeprowadzić właściwą analizę jądra komórkowego blastomeru zarodka, ponownie musiała opracować skuteczną metodę lizy pojedynczej komórki oraz dobrać odpowiednie warunki

do utrwalenia jądra komórkowego. Nie można nie wspomnieć o tym, że odkąd Pani dr Liss zaczęła zajmować się PGD musi ścigać się z czasem, co z pewnością jest wielkim wyzwaniem. Badania, analizy, które przeprowadza muszą być często wykonane w określonym czasie, tj. w ciągu 36 godzin. Jest to czas na podjęcie decyzji o wykonaniu transferu zarodka do macicy przyszłej matki w danym cyklu, co jest kluczowe w procesie leczenia metodą zapłodnienia pozaustrojowego. Zastosowana w pracy metoda FISH umożliwiła wybranie wyłącznie zrównoważonych genetycznie zarodków, co zaowocowało zdrowymi ciążami i narodzinami zdrowych dzieci. Wobec tego wykazano, że technika FISH może być wykorzystywana do oceny kariotypów zarodków w preimplantacyjnej diagnostyce i wykrywania RCP czy RT. W omówionej pracy Habilitantka jest pierwszym autorem i ocenia własny udział na 45%.

W pracy, opublikowanej w 2015 roku w czasopiśmie *Fertility and Serility* (IF 4,426), dr Liss jest piątym autorem z udziałem oszacowanym na 15%. W pracy tej Autorzy wykazali, że nowoczesna metoda biologii molekularnej, a mianowicie sekwencjonowanie następnej generacji, NGS (*ang. Next Generation Sequencing*), może być stosowane w PGD w celu analizy liczby chromosomów pod kątem oceny ploidii w zarodku. Udział Habilitantki w tych badaniach polegał na opracowaniu skutecznej metody lizy komórek poddanych badaniu, co jest niewątpliwie ważnym etapem diagnostyki genetycznej. Opracowana przez Habilitantkę metoda znalazła zastosowanie w rutynowych badaniach preimplantacyjnych, co z pewnością świadczy o powtarzalności i dokładności procedury.

W pracy przeglądowej, opublikowanej w 2016 roku w czasopiśmie *Ginekologia Polska* (IF 0,567), Habilitantka jest pierwszym oraz korespondującym autorem (ocenia swój udział na 50%). W pracy tej zostały omówione najważniejsze metody stosowane w PGD, ich korzyści oraz wady, jak i skuteczność w stosowanych analizach genetycznych. Uwzględnienie tego typu pracy w cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe - moim zdaniem - jest zasadne. Praca ta stanowi idealną klamrę, która spina prace eksperymentalne składające się na osiągnięcie naukowe Habilitantki. Dzięki tej pracy Pani dr Liss mogła skonfrontować własne wieloletnie doświadczenie i wiedzę w zakresie badań preimplantacyjnych komórek rozrodczych oraz zarodków z wynikami innych zespołów badawczych, czy z aktualnym stanem wiedzy.

W najnowszej pracy, opublikowanej w 2018 roku w czasopiśmie *Reproduction, Fertility and Development* (IF 2,105), analizowano skuteczność metody NGS w preimplantacyjnej diagnostyce genetycznej w cyklach z wykorzystaniem mrożonych zarodków. Wykazano, że metoda ta może być rutynowo wykorzystana w badaniach genetycznych w celu oceny ploidii zarodka przed jego podaniem do macicy matki. Jej zastosowanie w badaniach zwiększyło szanse powodzenia leczenia par starających się o zdrowe dziecko. W tej pracy Habilitantka jest zarówno pierwszym, jak i korespondującym autorem (swój udział ocenia na 45%).

Reasumując, cykl publikacji stanowiący osiągnięcie naukowe Pani dr Liss można uznać za cykl jednotematyczny. Niewątpliwie, stanowi on istotny wkład Habilitantki w rozwój preimplantacyjnej diagnostyki genetycznej. Metody, procedury opracowane lub udoskonalone przez Panią dr Liss charakteryzowały się czułością, specyficnością, dokładnością i powtarzalnością. Dzięki tym cechom są one obecnie wykorzystywane rutynowo w PGD w celu zdiagnozowania problemów o podłożu genetycznym w zarodkach, jak i w komórkach rozrodczych potencjalnych rodziców. Niektóre z opracowanych procedur można uznać za pionierskie. Pomimo niskich wartości współczynnika wpływu (IF) 2 prac oraz niewielkiego udziału własnego (15%) w przygotowanie jednej publikacji pozytywnie oceniam osiągnięcie naukowe Pani dr Liss.

Ocena pozostałej aktywności naukowo-badawczej Habilitantki

Poza 6 pracami stanowiącymi osiągnięcie naukowe, Pani dr Joanna Liss ma w swoim dorobku 29 współautorskich publikacji z listy JCR z udziałem 15-40%. Wszystkie prace ukazały się po uzyskaniu stopnia doktora i świadczą o znaczącym rozwoju naukowym Habilitantki. **Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) tych prac wynosi 62,435, co przekłada się na 678 punktów MNiSW.** Ich tematyka jest różnorodna. Jednakże głównym przedmiotem badań Habilitantki jest niepłodność i strategie postępowania w leczeniu niepłodności. Pani dr Liss m.in. uczestniczyła w pracach zespołowych nad standaryzacją wyników badań hormonu antymullerowskiego (AMH), będącego podstawowym wskaźnikiem w diagnostyce niepłodności, oraz nad opracowaniem modeli predykcyjnych stosowanych w leczeniu niepłodności. Wśród publikacji, których Pani dr Liss jest współautorem, są także prace dotyczące roli wirusa HPV w patogenezie raka szyjki macicy. Ponadto Habilitantka jest współautorem 5 publikacji, które ukazały się w czasopiśmie naukowych spoza listy JCR. Osiągnięcia naukowe z udziałem Habilitantki kilkakrotnie (w 2004, 2009, 2009 roku) były nagradzane przez Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku nagrodą zespołową.

Reasumując, uważam, że ta część dorobku naukowego Habilitantki jest wartościowa i niewątpliwie ma duże znaczenie dla specjalistów ginekologii i położnictwa czy embriologów klinicznych. Całkowity publikacyjny dorobek naukowy Pani dr Liss określony współczynnikiem oddziaływania (IF) wynosi 75,136 (816 punktów MNiSW). Współautorskie prace Pani dr Liss były cytowane 344 razy, zaś indeks Hirscha według bazy Web of Science wynosi 10. Jest to dobry wynik. Podane wskaźniki bibliometryczne świadczą o dobrej jakości prac, których Habilitantka jest współautorem. Pani dr Liss brała także aktywny udział w licznych konferencjach (46) międzynarodowych, jak i krajowych czy też w spotkaniach naukowych. W tym celu przygotowała i wygłosiła 21 wykładów. Świadczy to dobrze o Jej aktywności naukowej. Ponadto Habilitantka uczestniczy od 2018 roku w pracach europejskiego zespołu eksperckiego ESHRE Working Group

for the Embryo Biopsy, który zajmuje się opracowaniem międzynarodowych rekomendacji dotyczących biopsji do badań preimplantacyjnych. Niewątpliwie, jest to dowodem uznania dla dotychczasowych osiągnięć Pani dr Liss w PGD, Jej wiedzy oraz doświadczenia. Pewną skazą na karierze naukowej Habilitantki jest to, że do tej pory nie była kierownikiem wysokonakładowego projektu naukowego. Jednakże Pani dr Liss brała udział w realizacji projektu Narodowego Centrum Nauki jako główny wykonawca oraz była współrealizatorem projektu finansowanego przez Komitet Badań Naukowych. Ponadto brała udział w realizacji wspólnego projektu Uniwersytetu w Antwerpii i Akademii Medycznej w Gdańsku, który był finansowany przez rząd flamandzki.

Pani Dr Liss jest członkiem 5 towarzystw naukowych oraz wieloletnim członkiem zarządu Polskiego Towarzystwa Medycyny Rozrodu i Embriologii, o czym wspomniałam na początku (Przebieg rozwoju kariery naukowej).

Ocena osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych i w zakresie popularyzacji nauki

Pani dr Liss prowadziła szkolenia podyplomowe dla lekarzy podczas kursów specjalistycznych z endokrynologii ginekologicznej i rozrodczości z zakresu niepłodności i technik wspomaganego rozrodu. Ponadto brała udział w opracowaniu skryptu dla studentów medycyny (Wartość kliniczna stosowanych testów diagnostycznych na obecność infekcji HPV w profilaktyce i leczeniu raka szyjki macicy. Położnictwo; wybrane zagadnienia medycyny perinatalnej, Gdańsk: Akademia Medyczna). W latach 2009-2013 Pani dr Liss prowadziła cykl wykładów dla studentów IV roku Uniwersytetu Gdańskiego, Wydziału BGiO, dotyczący zapłodnienia pozaustrojowego oraz nowych metod badawczych we współczesnym leczeniu niepłodności. Habilitantka sprawowała także obowiązki opiekuna naukowego prac magisterskich prowadzonych we współpracy z Wydziałem Biologii Uniwersytetu Gdańskiego oraz jako nauczyciel akademicki (od 2018 roku) pełni obowiązki promotora 2 prac licencjackich oraz 1 pracy magisterskiej. Ponadto od 2018 roku Pani dr Liss jest członkiem Zespołu Ekspertów Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego (CMKP) do opracowania i aktualizacji programu specjalizacji w dziedzinie embriologii klinicznej dla zawodów mających zastosowanie w ochronie zdrowia, co świadczy, że jest uznanym ekspertem w swojej dziedzinie.

Dorobek dydaktyczny Pani dr Liss oceniam jako znaczący. Uważam, że Habilitantka jest doświadczonym dydaktykiem.

Wniosek końcowy

Po zapoznaniu się z przesłaną mi dokumentacją oraz analizie osiągnięcia naukowego, pozostałego dorobku naukowego oraz dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzującego naukę uważam, że wszystkie elementy działalności Pani dr Joanny Liss należy ocenić pozytywnie. Chciałabym podkreślić, że Pani dr Joanna Liss po uzyskaniu stopnia doktora w znaczącym stopniu rozwinęła swoją aktywność naukową. W tym czasie powstały liczne i wartościowe publikacje, które ukazały się w dobrych i bardzo dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, np.: w *J Proteomics*, *Hum Reprod Mar*, *Fertil Steril* czy *J Proteome Res Aug*. Raz jeszcze chciałabym podkreślić, że publikacje składające się na osiągnięcie naukowe Pani dr Liss stanowią znaczący wkład w rozwój preimplantacyjnej diagnostyki genetycznej. Na szczególne podkreślenie zasługuje też udział w 2 zespołach eksperckich, w tym ESHRE Working Group for the Embryo Biopsy oraz członkostwo w zarządzie Polskiego Towarzystwa Medycyny Rozrodu i Embriologii. Nie mam wątpliwości, że Pani dr Liss jest uznanym ekspertem w swojej dziedzinie oraz samodzielnym i dojrzałym naukowcem. **W podsumowaniu** chciałabym stwierdzić, że Pani dr Joanna Liss spełnia wymagania Ustawy o stopniach i tytułach naukowych w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 wraz z późniejszymi zmianami, stawiane kandydatom w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego. **W związku z powyższym składam wniosek do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego w Gdańsku o nadanie Pani dr Joannie Liss stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych w dyscyplinie biologia.**

Gdańsk, dnia 26.06.2019

dr hab. Sabina Kędzierska-Mieszkowska, prof. UG

Sabina Kędzierska-Mieszkowska