

Dr hab. Dariusz Gączarzewicz, prof. ZUT
Katedra Biotechnologii Rozrodu Zwierząt i Higieny Środowiska
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Klemensa Janickiego 29
71-220 Szczecin

Szczecin, dn. 27 maja 2024 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. Tomasza Machałowskiego pt. „Ocena integralności genomu plemników i potencjału oksydacyjno–redukcyjnego w nasieniu ze szczególnym uwzględnieniem mężczyzn nieplodnych”

wykonanej w Zakładzie Histologii i Biologii Rozwoju Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego
w Szczecinie pod kierunkiem naukowym Pani prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Małgorzaty Piaseckiej
oraz Pana dr n. med. Kamila Gilla jako promotora pomocniczego

Nieplodność partnerska stanowi obecnie poważny problem cywilizacyjny i społeczny, który w skali globalnej dotyczy 15–20% par w wieku rozrodczym. Przyczyny zaburzenia płodności są bardzo zróżnicowane, w dużej mierze inne po stronie kobiet i mężczyzn, a w wielu przypadkach mają również charakter idiopatyczny bądź niewyjaśniony. Wiąże się to zarówno z potrzebą zbadania wciąż nie w pełni poznanych zjawisk podstawowych będących podłożem nieplodności, jak i z koniecznością opracowania skutecznych rozwiązań diagnostycznych, które dają szansę na uzyskanie sukcesu terapeutycznego, czyli udanego porodu.

W postępowaniu diagnostycznym nieplodnej pary jednym z podstawowych badań weryfikujących czynnik męski jest standardowa ocena nasienia przeprowadzana według rekomendacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, obecnie z 2021 roku). W wielu przypadkach nieplodności, zwłaszcza idiopatycznej lub niewyjaśnionej, standardowa ocena nasienia nie jest jednak wystarczająca i ma niską wartość w przewidywaniu zdolności plemników do zapłodnienia, rozwoju zarodka, czy uzyskania ciąży. Wymagane jest wówczas dalsze wnikliwe postępowanie umożliwiające bardziej dogłębną diagnostykę seminologiczną, co wiąże się z wdrażaniem nowych, zaawansowanych metod laboratoryjnych. Jest to szczególnie istotne, biorąc pod uwagę że ustalenie przyczyn nieplodności ze względu na jej wieloczynnikowe oraz złożone podłoże często nie jest łatwe i zależy od odpowiednio dobranych i przeprowadzonych procedur diagnostycznych. Liczne badania wskazują, że kluczowe znaczenie ma ocena integralności materiału genetycznego plemników, która odzwierciedla prawidłowy przebieg procesów przebudowy i kondensacji chromatyny, a także jej późniejszej stabilizacji odbywającej się już poza gonadą. Ważne jest także zweryfikowanie efektywności działania systemu antyoksydacyjnego w nasieniu. Zaburzenia równowagi między procesami pro- i antyoksydacyjnymi w układzie płciowym mężczyzn prowadzić mogą do stresu oksydacyjnego, jednego z istotnych czynników ryzyka uszkodzenia plemników. Stres oksydacyjny w nasieniu przyczynia się do poważnych, nieodwracalnych zmian struktury molekularnej białek, lipidów i DNA w plemnikach, co w konsekwencji upośledza funkcję biologiczną gamet. Podkreślić należy, że patomechanizm uszkodzeń genomu plemników może być związany z utratą homeostazy oksydacyjno–

redukcyjnej w nasieniu, a męska niepłodność spowodowana zarówno czynnikami endogennymi, jak i egzogennymi. W tym kontekście przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska jak najbardziej związana jest z aktualną tematyką dotyczącą zdrowia reprodukcyjnego mężczyzn i wpisuje się w obszar badań nad weryfikacją przydatności metod stosowanych w diagnostyce seminologicznej, które umożliwiają skuteczną identyfikację przyczyn męskiej niepłodności.

Oceniana dysertacja ogółem obejmuje 67 ponumerowanych stron i zawiera 7 tabel oraz 8 rycin. Rozprawa doktorska ma charakter monografii autorskiej, zawiera wszystkie niezbędne elementy w układzie typowym i zgodnym z wymogami przyjętymi dla tego typu opracowań. Na początku pracy zamieszczono spis treści, wykaz stosowanych skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim. W dalszej części wyróżniono 10 zasadniczych rozdziałów: „*Wprowadzenie, Uzasadnienie i cel badań, Materiał i metody, Wyniki badań, Podsumowanie wyników, Omówienie wyników i dyskusja, Wnioski, Spis rycin i tabel, Piśmiennictwo, Aneks – notę biograficzną doktoranta*”. Wymienione rozdziały i ich kolejność tworzą spójną oraz logiczną całość składającą się na odpowiednią strukturę pracy, która jednoznacznie ma charakter naukowy.

Tytuł dysertacji jest sformułowany poprawnie i koresponduje z postawionymi celami oraz zawartymi w niej treściami.

„*Wprowadzenie*” stanowi najbardziej rozbudowany pod względem zawartości tekstu rozdział pracy (strony 13–36). Przyczyniło się do tego zapewne wnikliwe podejście Autora, który w sposób merytorycznie poprawny i wyczerpujący przedstawia w poszczególnych podrozdziałach zagadnienia ściśle związane z tematyką podjętych badań. Wprowadzając w nią Doktorant wyjaśnia aktualne stanowisko w definiowaniu niepłodności męskiej oraz syntetycznie nakreśla jej problem w aspekcie populacyjnym. Opisuje również przedjądrowe, jądrowe i pozajądrowe czynniki związane z niepłodnością, a także podstawowe etapy postępowania diagnostycznego dotyczące jej rozpoznania u mężczyzn. W kolejnym podrozdziale Autor uwagę czytelnika skupia na specyficznej dla plemników organizacji materiału genetycznego. Podkreśla rolę prawidłowego przebiegu procesów reorganizacji DNA plemników w jądrze i najądrzu oraz wyjaśnia molekularne mechanizmy nieprawidłowego przebiegu kondensacji chromatyny plemników. W tej części pracy Doktorant słusznie zwraca uwagę również na apoptozę, której znaczenie opisuje zarówno w kontekście fizjologicznego zjawiska zachodzącego w gonadzie męskiej, jak i procesu związanego z etiopatogenezą genomu różnicujących się komórek germinalnych oraz plemników. Wskazuje między innymi, że reaktywne formy tlenu (RFT) mogą mieć kluczową rolę w inicjacji apoptozy szlakiem wewnątrzpochodnym zależnym od mitochondriów i ostatecznie przyczyniać się mogą do utraty integralności DNA plemników. Stąd też kolejny podrozdział „*Wprowadzenia*” Autor poświęca ważnym zagadnieniom dotyczącym stresu oksydacyjnego w nasieniu. Definiuje pojęcie tego stanu, charakteryzuje sposób powstawania RFT oraz enzymatyczne i nieenzymatyczne komponenty systemu antyoksydacyjnego, uwzględniając przy tym protekcyjną dla plemników funkcję prostatosomów. Następnie przechodzi do szczegółowego opisu zarówno endo- jak i egzogennych źródeł powstawania RFT, wskazuje lokalizację i szlaki ich generowania, a także czynniki związane z nadmiernym narażeniem na RFT. W ostatnich dwóch wyodrębnionych częściach podrozdziału Doktorant skupia się na fizjologicznej i patologicznej roli RFT w odniesieniu do męskich komórek rozrodczych. Przedstawia molekularne mechanizmy procesów których prawidłowy przebieg w jądrze, najądrzu oraz podczas zapłodnienia uwarunkowany jest odpowiednio niskim poziomem RFT, a także opisuje oksydacyjne uszkodzenia lipidów, białek i materiału genetycznego plemników, określając ich niekorzystny wpływ na funkcjonowanie męskich komórek rozrodczych.

W mojej ocenie kompozycja treści zawartych w rozdziale „*Wprowadzenie*” jest w pełni przemyślana i logiczna, napisana została w oparciu o wiele przedmiotowych i najnowszych pozycji piśmiennictwa, co daje możliwość właściwego zapoznania z podjętą w dysertacji problematyką badawczą i dowodzi jej dobrej znajomości. Chciałbym również podkreślić rzetelność Autora w opracowaniu całego rozdziału oraz przejrzysty i zrozumiały (także pod względem stylistycznym i ilustracyjnym; ryciny 1–6, tabele 1–3) sposób prezentacji swojej wiedzy. Uważam, że te walory należy wykorzystać przy przygotowaniu publikacji przeglądowej, a ta część pracy może być jej „solidną” podstawą.

W kolejnym rozdziale („*Uzasadnienie i cele badań*”) Doktorant syntetycznie zestawia informacje przedstawione we wprowadzeniu, które są kluczowe w kontekście realizacji badań autorskich. Wskazuje, że ograniczona wartość prognostyczna i użyteczność kliniczna standardowo przeprowadzanej diagnostyki seminologicznej, zwłaszcza w przypadkach niepłodności idiopatycznej lub niewyjaśnionej, wymaga uwzględniania i wprowadzenia dodatkowych wskaźników oceny nasienia. Zwięźle i racjonalnie uzasadnia, że duże znaczenie w ustalaniu przyczyn niepłodności mogą mieć te parametry, które także ze względu na potencjalne powiązania weryfikują status integralności chromatyny plemników oraz równowagi oksydacyjno–redukcyjnej w nasieniu. Stąd kończąc rozdział Doktorant przedstawia cele pracy, ogólny oraz szczegółowe. Zasadniczo sformułowane są one prawidłowo, jasno określają zamierzenia i plan realizacji wykonanych badań. Sugeruję jednak przeredagowanie celu ogólnego, w moim odczuciu użyty odnośnik „...*ich*...” (strona 38) nie daje możliwości precyzyjnego nawiązania do wcześniejszej treści (zwracam również uwagę, że w „*Streszczeniu*” słusznie usunięto z treści celu sformułowanie „...*konwencjonalną ich charakterystyką*...”, stąd jak sadzę moja uwaga dotyczy prawdopodobnie niezamierzonego błędu redaktorskiego).

Celem badań podjętych przez Pana lek. Tomasza Machałowskiego było „*znalezienie związku między konwencjonalną charakterystyką nasienia, integralnością genomu plemników, potencjałem oksydacyjno–redukcyjnym w nasieniu (...) a niepłodnością męską*”. Doktorant cel ten realizował poprzez analizę porównawczą wskaźników oceny standardowej oraz parametrów dodatkowych określających poziom fragmentacji jądrowego DNA plemników i potencjał oksydacyjno–redukcyjny w nasieniu mężczyzn niepłodnych i płodnych. W obu grupach w oparciu o przyjęte wartości graniczne wyodrębnił mężczyzn z powyżej 20% udziałem plemników z fragmentacją DNA (SDF >20% plemników) i mężczyzn ze stresem oksydacyjnym w nasieniu (wartościami znormalizowanego potencjału oksydacyjno–redukcyjnego, sORP >1,37 mV/ $\times 10^6$ plemników /mL), a następnie porównał częstość ich występowania. Określił ponadto ryzyko na wystąpienie SDF >20% plemników i sORP >1,37 mV/ $\times 10^6$ plemników /mL w nasieniu u mężczyzn niepłodnych i płodnych, a także ustalił wartości obu dodatkowo zastosowanych testów (oceny integralności genomu plemników i potencjału oksydacyjno–redukcyjnego w nasieniu) powyżej których zwiększa się ryzyko niepłodności męskiej.

W rozdziale „*Materiał i metody*”, podzielonym na 5 podrozdziałów, Autor zrozumiale i szczegółowo przedstawia materiał oraz sposób przeprowadzenia badań. Uważam, że dobór materiału oraz właściwie wybrane i zastosowane metody pozwoliły Doktorantowi na poprawną w kontekście postawionych założeń realizację części badawczej pracy. Wykorzystał w niej nasienie 206 mężczyzn ochotników (zgłaszających się do Pracowni Andrologicznej Zakładu Histologii i Biologii Rozwoju PUM w Szczecinie), których na podstawie odpowiednio przeprowadzanych procedur diagnostyczno–kwalifikacyjnych (m.in. wg. kryteriów WHO z 2021 roku) skategoryzował jako mężczyzn niepłodnych (n=117, w tym 10 z normozoospermia) i płodnych (grupa kontrolna z potwierdzoną

plodnością w okresie ostatnich 2 lat; n=89, w tym 46 z normozoospermią). W standardowej analizie seminologicznej zastosował m.in. uszczegółowioną ocenę morfologii plemników, a do oceny ich żywotności dwa testy – z eozyną i hiposomotycznego pęcznienia plemników. W badaniach uwzględnił również wiek mężczyzn. Integralność genomu plemników Doktorant badał za pomocą testu dyspersji chromatyny (SCD, Holosperm® G2) określając w mikroskopie świetlnym udział plemników z fragmentacją DNA. Z kolei występowanie stresu oksydacyjnego przeprowadził na podstawie pomiaru potencjału oksydacyjno–redukcyjnego w nasieniu za pomocą systemu MiOXSYS®. Chciałbym podkreślić, że wykorzystanie tego systemu przez Doktoranta należy uznać za bardzo trafną decyzję, zwiększającą walor aktualności i nowatorskiego podejścia do wykonanych badań (ze względu na stosunkowo niedługi okres jaki upłynął od wdrożenia systemu). Ostatnia wyodrębniona część omawianego rozdziału zawiera wyczerpujący opis analiz statystycznych, w którym Autor rzeczowo uzasadnia i wyjaśnia sposób opracowania uzyskanych danych. W mojej opinii liczebność grup była wystarczająca do przeprowadzenia poprawnej oceny statystycznej. Nie mam również zastrzeżeń do zastosowanych w tej ocenie testów oraz opracowania statystycznego wyników (test Shapiro-Wilka, test U Manna-Whitneya, test Chi², analiza ilorazu szans OR, analiza krzywej ROC).

W kolejnych dwóch rozdziałach dysertacji Doktorant przedstawia opis uzyskanych wyników („Wyniki badań”) oraz ich zestawienie („Podsumowanie wyników”). Moje uznanie budzi umiejętne i fachowe zaprezentowanie wyników w postaci wyczerpująco informacyjnych tabel (4–7) i rycin (7 i 8) oraz w kolejności adekwatnej do postawionych celów szczegółowych. Autor w tej części pracy również wykazał się talentem, opis wyników jest syntetyczny a jednocześnie wyczerpujący. Przekłada się to na przejrzystość, a także czytelność w odbiorze treści obu rozdziałów.

Pierwsza część opisu wyników dotyczy porównania wieku oraz standardowo ocenianych parametrów seminologicznych pomiędzy mężczyznami nieplodnymi i płodnymi. Doktorant stwierdził, że przeciętny wiek mężczyzn nieplodnych był istotnie wyższy niż płodnych. Udowodnił występowanie słabszej jakości nasienia u mężczyzn nieplodnych, co wykazał na podstawie występowania istotnych różnic pomiędzy analizowanymi grupami mężczyzn w zakresie niemal wszystkich podstawowych parametrów seminologicznych (tylko objętość ejakulatu w obu grupach nie różniła się znacząco). Dotyczyły one m.in. koncentracji plemników, całkowitej liczby plemników w ejakulacie, ruchliwości, żywotności oraz morfologii plemników, w tym szczegółowych wskaźników morfologicznych (wyrażonych liczbą wad główki, wstawki, wtyki, plemników z cytoplazmą resztkową oraz indeksem teratozoospermii). Uzyskane wyniki uznać należy za prawidłowe, bowiem biorąc pod uwagę analizowane grupy mężczyzn oczekiwać można było, że właśnie wskaźniki standardowej analizy nasienia mężczyzn nieplodnych i płodnych będą się znacząco różniły. Podkreślę jednak, że nie jest to tak oczywiste ze względu na możliwość występowania w grupie nieplodnych mężczyzn przypadków z rozpoznaniem normozoospermii, a w obu badanych grupach przypadków mężczyzn z danym rodzajem patospermii. Zauważyć można również, że stwierdzone przez Doktoranta różnice pomiędzy nieplodnymi i płodnymi mężczyznami w tak szerokim zakresie wskaźników standardowej oceny nasienia mogą także wskazywać na wystarczającą liczebność grup badanych.

Doktorant uzyskał szereg interesujących wyników dotyczących dodatkowych wskaźników oceny nasienia. U mężczyzn nieplodnych, w porównaniu do mężczyzn z potwierdzoną plodnością, wykazał znacząco większy udział plemników z pofragmentowanym jądrowym DNA (mediana: 20,00% vs. 13,00%) oraz istotnie wyższą wartość sORP (mediana: 2,16 vs. 0,66 mV/ ×10⁶ plemników /mL). Stwierdził, że liczba mężczyzn z klinicznie istotnym poziomem uszkodzenia DNA plemników

(>20% plemników) oraz mężczyzn ze stresem oksydacyjnym w nasieniu (sORP >1,37 mV/ $\times 10^6$ plemników /mL) była odpowiednio ponad 2- oraz 4-krotnie znacząco większa w grupie mężczyzn nieplodnych w odniesieniu do płodnych (odpowiednio 48,72% vs. 21,35% mężczyzn oraz 66,66% vs. 15,73% mężczyzn). Doktorant na podstawie dalszej analizy statystycznej wykazał, że w grupie mężczyzn nieplodnych ryzyko na wystąpienie w nasieniu uszkodzeń jądrowego DNA na poziomie ponad 20% plemników było 3,5-krotnie wyższe niż u mężczyzn z grupy kontrolnej. Z kolei ryzyko na wystąpienie stresu oksydacyjnego w nasieniu określił na ponad 10-krotnie wyższe w grupie mężczyzn nieplodnych w odniesieniu do grupy mężczyzn płodnych. Wyniki uzyskane przez Doktoranta wyraźnie wskazywały, że nieplodność męska związana jest z zaburzeniami oksydacyjno-redukcyjnymi w nasieniu i uszkodzeniami materiału genetycznego plemników, oraz że stres oksydacyjny w nasieniu nieplodnych mężczyzn może być istotnym czynnikiem ryzyka powiązanim z utratą integralności DNA plemników. Badania Autora dowiodły również, że nie każdy przypadek nieplodności męskiej ze zidentyfikowanym klinicznie stresem oksydacyjnym w nasieniu związany jest z obniżeniem integralności genomu plemników, a duże znaczenie diagnostyczne i terapeutyczne może mieć jednoczesne wykonywanie obu dodatkowych wskaźników oceny nasienia zastosowanych w pracy. W tym kontekście ważne było ustalenie wartości predykcyjnej testów wykorzystanych do oceny fragmentacji DNA plemników i potencjału oksydacyjno-redukcyjnego w nasieniu mężczyzn. Wartość tą w badanej populacji mężczyzn Doktorant określił na podstawie analizy krzywych ROC oraz pól powierzchni znajdujących się pod tymi krzywymi. Stwierdził, że statystyczne ryzyko nieplodności męskiej w przypadku wyników testu SCD występowało przy poziomie powyżej 13% plemników z pofragmentowanym DNA, natomiast w przypadku oceny sORP przy wartościach powyżej 1,256 mV/ $\times 10^6$ plemników /mL. Wartość prognostyczną obu testów Doktorant ustalił odpowiednio jako satysfakcjonującą i dobrą (wartości AUC dla testów SCD i weryfikującego sORP wynosiły odpowiednio 0,735 i 0,823), czym potwierdził ich przydatność w diagnostyce nieplodności męskiej. Zwrócić należy także uwagę, że badania Autora wskazywać mogą na potrzebę wyznaczania w laboratoriach wewnętrznych wartości referencyjnych dla tych testów, bowiem te podawane przez producentów mogą przyczyniać się do nieprawidłowej interpretacji wyników i błędów w zdiagnozowaniu nieplodności. Uzyskane przez Doktoranta wyniki z tej części badań, w mojej opinii mają dużą wartość aplikacyjną i wnoszą cenne informacje, które mogą być wykorzystane w klinicznym rozpoznaniu nieplodności.

W kolejnym rozdziale pracy Autor przedstawia omówienie wyników („*Omówienie wyników i dyskusja*”). Rozdział podzielił na 3 podrozdziały zbieżne z celami szczegółowymi, dzięki czemu dyskusja jest przejrzysta i czytelna. Doktorant przeprowadził ją w chronologii zgodnej z opisywanymi wcześniej wynikami badań koncentrując się na ich porównaniu do rezultatów badań otrzymanych przez innych autorów. Rozdział ten został napisany na dobrym poziomie naukowym, a wyniki uzyskane przez Autora prawidłowo zinterpretowane. Podkreślę, że odniesienie do wyników badań innych autorów Doktorant przeprowadził dogłębnie i szczegółowo. Umiejętnie wykorzystał wiele aktualnych oraz bardzo dobrze dobranych publikacji angielskojęzycznych, również z krytycznym podejściem do analizy i interpretacji zawartych w nich wyników. W związku z tym treści rozdziału prezentują merytoryczną i dojrzałą dyskusję naukową.

Podsumowaniem całej pracy są 4 wnioski, które odzwierciedlają wyniki uzyskane w pracy i korespondują z postawionymi celami. Uważam, że Doktorant sformułował je poprawnie, są one logiczne i wynikają z treści pracy. W tym miejscu podkreślę najważniejsze osiągnięcia Doktoranta wynikające z przeprowadzonych badań, uważam że należą do nich:

- wykazanie u mężczyzn niepłodnych wyższego ryzyka na wystąpienie zaburzeń oksydacyjno–redukcyjnych w nasieniu oraz wyższego ryzyka uszkodzenia chromatyny plemników niż u mężczyzn płodnych
- dowiedzenie, że u mężczyzn niepłodnych stres oksydacyjny w nasieniu może być istotną przyczyną oksydacyjnych uszkodzeń DNA plemników
- wykazanie, że wykorzystane w badaniach metody oceny fragmentacji DNA plemników i potencjału oksydacyjno–redukcyjnego w nasieniu mężczyzn są testami komplementarnymi
- wskazanie konieczności zweryfikowania interpretacji wyników obu testów w klinicznym rozpoznawaniu męskiej niepłodności.

W rozdziale „*Piśmiennictwo*” wskazano 219 pozycji, obejmujących publikacje oryginalne i poglądowe, w zdecydowanej większości angielskojęzyczne (95%). Pozycje pochodzące z ostatnich pięciu lat (2020–2024) stanowią 53%, natomiast z ostatnich dziesięciu lat (2015–2024) stanowią 90%. Cytowane publikacje są merytorycznie związane z tematyką badawczą prezentowaną w rozprawie doktorskiej i zostały prawidłowo wykorzystane w poszczególnych jej rozdziałach.

Całość pracy zwięźcza „*Aneks – nota biograficzna doktoranta*” zawierający opis i wykaz dorobku naukowego Pana lek. Tomasza Machałowskiego, który jest autorem i współautorem publikacji w recenzowanych czasopismach naukowych (9 artykułów) oraz doniesień zjazdowych na konferencjach krajowych i zagranicznych (20 streszczeń). Sumaryczny Impact Factor dorobku naukowego Doktoranta wynosi 20,114, natomiast łączna liczba punktów MNiSW za ten dorobek wynosi 619.

Ze względu na obowiązek recenzenta poniżej zamieszczam uwagi, które w żaden sposób nie zmniejszają wartości merytorycznej przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej. Są to jedynie wskazania drobnych błędów redakcyjnych lub sugestii:

- strona 25, 29, „*byka*” zastąpić „*buhaja*”; strona 25 „*witce głównej plemnika*” – ?
- strona 31, „*...upośledzoną przemianę histonów w protaminę,...*” – ?
- strona 42, podrozdział „*3.5. Analiza statystyczna*”, treść zdania w przypisie dolnym (6) – „*...Czułość definiowana jest jako, natomiast specyficzność jako .*” – wymaga dokończenia opisu /zredagowania;
- strona 44, rozdział „*4. Wyniki badań*”, tabela 4: należy skorygować „*Wieka (lata)*” na „*Wiek (lata)*”, „*Komórki okrągłe linii spermatogenicznej ($\times 10^6$ /mL /mL)*” na „*Komórki okrągłe linii spermatogenicznej ($\times 10^6$ /mL)*”; w opisach pod tabelami 4 i 5 sugeruję użycie sformułowania „*...za pomocą mediany (zakresu) oraz średniej ...*” i korektę „*Istotność statystyczna testu Manna–Whitneya...*”
- ujęcie zastosowanych skrótów (np. HOS test) w wykazie
- strona 43, zgodnie ze stosowanym nazewnictwem w rozdziale „*Material i metody*”, podrozdział 4.2. powinien być zatytułowany „*Rozszerzona i zaawansowana analiza seminologiczna*”
- strona 45, przy przygotowaniu wyników badań do publikacji sugeruję połączenie tabeli 6 i 7
- rozdział „*Piśmiennictwo*”: brak konsekwencji przy wskazywaniu nazw czasopism.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską oceniam wysoko. Stanowi ona odpowiednio zaprojektowaną oraz kompleksowo zrealizowaną pracę z niezwykle istotną w aspekcie zdrowia reprodukcyjnego ludzi, trafnie dobraną tematyką badawczą. Autor wykorzystując specjalistyczne i nowoczesne metody oceny plemników /nasienia uzyskał wartościowe wyniki, które mogą przyczynić się do postępu w diagnostyce nasienia mężczyzn. W mojej opinii oceniana dysertacja wnosi cenne dane do zasobów wiedzy z zakresu specyficznego i złożonego podłoża mechanizmów strukturalno-funkcjonalnych zaburzeń plemników oraz pozwala lepiej zrozumieć zmienność występowania określonego poziomu wskaźników seminologicznych u mężczyzn. Uznać należy ponadto, że praca stanowi oryginalny i wartościowy dokument naukowy, który świadczy o rzetelnej wiedzy Autora oraz o wysokim poziomie umiejętności opracowania i redagowania pracy naukowej.

Mając powyższe na uwadze stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca pt. „Ocena integralności genomu plemników i potencjału oksydacyjno-redukcyjnego w nasieniu ze szczególnym uwzględnieniem mężczyzn nieplodnych” odpowiada wymaganiom określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r., poz. 742 z późn. zm.). Wnoszę więc do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie wniosek o dopuszczenie Pana lek. Tomasza Machałowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

