

Prof. dr hab. n. med. Jacek Gronwald
Zakład Genetyki i Patomorfologii
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
ul. Unii Lubelskiej 1
71-252 Szczecin

Ocena rozprawy doktorskiej lek. Tadeusza Kałużewskiego

**pt. „Zastosowanie wybranych metod diagnostyki molekularnej w
optymalizacji postępowania onkologicznego”**

Testy molekularne odgrywają coraz większą rolę w diagnostyce onkologicznej. W przypadku oceny genomu komórki nowotworowej umożliwiają bardziej precyzyjną diagnozę, czasem niedostępną tradycyjnymi metodami histopatologicznymi. W przypadku oceny zmian germinalnych pozwalają na ocenę dziedzicznego charakteru nowotworu i oszacowanie ryzyka innej zmiany pierwotnej u osoby badanej, a także u krewnych tej osoby. Zarówno, zdiagnozowane molekularne zmiany somatyczne, jak i zmiany germinalne, mają znaczenie w indywidualizacji leczenia pacjenta, co przekłada się na osiągnięcie lepszych wyników terapeutycznych, dlatego temat podjęty przez doktoranta uważam za trafny i ważny.

Rozprawę doktorską stanowi cykl trzech publikacji, z których dwie są oryginalnymi artykułami naukowymi, a jeden artykuł jest pracą przeglądową:

1. Kałużewski, T., Przybylski, G. K., Bednarek, M., Glazar, S., Grabiec, M., Jędrzejczyk, A., Kępczyński, Ł., Kubiak, I., Kucharska, D., Morel, A., Owczarek, M., Roźniecki, M., Sałamunia, J., Szewczyk, D., Szwalski, J., & Kałużewski, B. (2021). The Usefulness of Cell-Based and Liquid-Based Urine Tests in Clarifying the Diagnosis and Monitoring the Course of Urothelial Carcinoma. Identification of Novel, Potentially Actionable, RB1 and ERBB2 Somatic Mutations. Journal of

personalized medicine, 11(5), 362. <https://doi.org/10.3390/jpm11050362>. (IF = 3.508, MNiSW = 70)

Indywidualny wkład: autor korespondencyjny odpowiedzialny za zaplanowanie i koncepcję pracy, udział w pozyskaniu środków na badanie, przeprowadzenie analizy bioinformatycznej, przygotowanie rycin oraz napisanie finalnej wersji manuskryptu. Proporcjonalny udział w realizacji pracy – 70%.

2. Kałużewski T, Kubiak I, Kępczyński Ł, Jedrzejczyk A, Roźniecki M, Gach A, Kałużewski B. Mutacje promotora genu *TERT* jako markery molekularne stanów przednowotworowych raka pęcherza moczowego. Przegląd literatury oraz opis przypadku. W W. Krupski (red.), *Medycyna spersonalizowana 2022 : monografia* (s. 33– 38). (MNiSW = 20)

Indywidualny wkład: autor korespondencyjny odpowiedzialny za koncepcję pracy, przegląd literatury oraz napisanie finalnej wersji manuskryptu. Proporcjonalny udział w realizacji pracy – 80%.

3. Kałużewski, T., Kubiak, I., Bednarek, M., Sałamunia, J., Kucharska, D., Kępczyński, Ł., Stempień, M., Kubicki, T., Trzeciński, R., Gordon-Sönmez, Z., Bartosińska-Dyc, A., Gach, A., & Kałużewski, B. (2023). Report on the Effect of the Implementation of an Early Detection and Prevention of Cancer Program on Families at High Hereditary Risk Concentrating on Patients Undergoing Genetic Diagnostics and Counseling in Central Poland. *International journal of molecular sciences*, 24(17), 13178. <https://doi.org/10.3390/ijms241713178>. (IF = 4.9, MNiSW = 140)

Indywidualny wkład: autor korespondencyjny odpowiedzialny za zaplanowanie i koncepcję pracy, zgromadzenie danych klinicznych, interpretację wyników oraz napisanie finalnej wersji manuskryptu. Proporcjonalny udział w realizacji pracy – 70%.

Łączny IF publikacji wynosi 8.408. a punktacja ministerialna to 230. punktów.

Rozprawa doktorska jest napisana poprawnie w języku polskim i jest przedstawiona w formie wydruku komputerowego. Rozprawa liczy 83 strony, jest podzielona na 15 rozdziałów - typowych dla tego rodzaju opracowań.

W publikacji pierwszej, na przykładzie 61 letniego pacjenta z rakiem pęcherza moczowego, doktorant ocenił użyteczność sekwencjonowania całego genomu w odniesieniu do rutynowo stosowanych metod diagnostyki raka pęcherza moczowego. Przeprowadzona analiza próbek DNA izolowanych z moczu oraz krwi obwodowej umożliwiła m.in. identyfikację charakterystycznych dla raka pęcherza moczowego zmian genomowych oraz potencjalnych markerów terapii celowanych oraz umożliwiła precyzyjną diagnozę pacjenta.

W drugiej pracy omówiono aktualny stan wiedzy na temat znaczenia wariantów w obrębie promotora genu *TERT* w wykrywaniu raka pęcherza moczowego z próbek moczu. Przeprowadzono także retrospektywną analizę danych pochodzących z pierwszej publikacji cyklu pod kątem obecności tych wariantów, zwracając uwagę na ich potencjalną użyteczność we wczesnej diagnostyce raka pęcherza moczowego. Wskazano na rozbieżność między odsetkiem wykrywalności wariantów, a zastosowaną metodą laboratoryjną, co wskazuje na potencjał do podniesienia wskaźnika detekcji przy zastosowaniu czulszych metod. Z perspektywy badań przesiewowych istotny jest również fakt, że warianty promotora genu *TERT* można wykryć w komórkach osadu moczu, nawet 10 lat przed diagnozą raka pęcherza moczowego. Należy podkreślić, że omawiana publikacja stanowiła punkt wyjścia dla opracowania w Zakładzie Genetyki Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki metody, która spełnia wszystkie wymagania stawiane testom przesiewowym oraz aktualnie poddawana jest procedurze zgłoszenia patentowego.

Trzecia publikacja opierała się na analizie wyników badań molekularnych przeprowadzonych na grupie pacjentek i pacjentów z podejrzeniem zespołów

dziedzicznych predyspozycji do nowotworów. Praca przedstawia częstość wykrywania poszczególnych wariantów w badanej populacji oraz omawia zalety sekwencjonowania następnej generacji w określonych sytuacjach klinicznych. W pracy tej podsumowano doświadczenia z zakresu diagnostyki genetycznej rodzinnych predyspozycji do nowotworów, w tym raka piersi, jajnika, jelita grubego i endometrium. Szczególnie interesujące wydają się być wyniki uzyskane w ramach oceny programu, dotyczącego raka jelita grubego oraz endometrium (Moduł II). Aż 8/25 wykrytych wariantów patogennych (32%) stanowiły zmiany tradycyjnie kojarzone z nowotworami piersi, jajnika oraz prostaty. Żadna z 8 osób, u których wykryto powyższe warianty nie spełniała kryteriów kwalifikacji do panelu NGS przewidzianych w programie wykrywania predyspozycji do raka piersi i jajnika (Moduł I) oraz nie zostałaby zdiagnozowana gdyby wykorzystany w Module II panel zawierał wyłącznie geny przewidziane regulaminem Programu. Doktorant słusznie sugeruje, że diagnostyka predyspozycji rodzinnych powinna być oferowana szerszemu gronu pacjentów niż wynikałoby to z kryteriów rodowodowo-klinicznych. Jednocześnie dojrzałe, wskazuje na ograniczenia metody.

Przedstawione w rozprawie zastosowanie badań genetycznych stanowi przykład skutecznego wykorzystania ich jako narzędzi diagnostycznych w onkologii, umożliwiających precyzyjne rozpoznawanie i molekularną klasyfikację nowotworów oraz identyfikację zespołów dziedzicznych predyspozycji.

Manuskrypt jest napisany w dobrym stylu. Pracę oceniam bardzo wysoko, ma dużą wartość nie tylko naukową, ale i aplikacyjną z potencjałem patentowym. Badania zostały zaplanowane i przeprowadzone na najwyższym poziomie oraz opublikowane w czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania. Prace wskazują, że nawet w pojedynczym przypadku, podejmując wysiłek zastosowania nowoczesnych technik można osiągnąć sukces diagnostyczny (praca 1-wsza) - co

jest oczywiste, ale angażując się głębiej i wykazując pasję badawczą można osiągnąć wynik, z którego korzyść czerpie nie tylko pojedynczy pacjent, ale i grupa pacjentów (praca 2-ga), a opracowana metoda diagnostyczna jest przedmiotem postępowania patentowego. Praca trzecia wskazuje na umiejętność Doktoranta myślenia w skali populacji. Prace wskazują, że lek. Tadeusz Kałużewski posiadał umiejętności dobrego lekarza i wnikliwego badacza.

Nieliczne błędy literowe zostały zaznaczone w ocenianej kopii. Sugeruję, by dość częstą manierę opisywania somatycznych zmian molekularnych zdiagnozowanych w guzie, opisywać jako „genomowe”, a nie „genetyczne” (chyba, że zostały potwierdzone również w krwi obwodowej). Określenie „genetyczne” powinno odzwierciedlać dziedziczny charakter tych zmiany, co nie ma miejsca w przypadku zmian somatycznych diagnozowanych w guzie nowotworowym.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz.595, z późn. zm.).

Wobec powyższego, przedstawiam Radzie Naukowej Instytutu „Centrum Zdrowia Matki Polki” wniosek o dopuszczenie lek. Tadeusza Kałużewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego, równocześnie wnoszę o wyróżnienie pracy.

Szczecin 07.11.2024.


Prof. dr hab. n. med. Jacek Gronwald