



UNIwersytet Medyczny w Lublinie
Katedra Genetyki Medycznej i Zakład Genetyki Klinicznej,
ul. Radziwiłłowska 11, 20-080 Lublin, tel./fax. 81 448 6110;
Email: janusz.kocki@umlub.pl
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Janusz Kocki

Recenzja

**osiągnąć dr. n. med. Radosława Charkiewicza z Zakładu Klinicznej Biologii
Molekularnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku w związku z postępowaniem w
sprawie nadania Jemu stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych w
dyscyplinie biologia medyczna.**

Recenzję wykonałem zgodnie z pismem Pani prof. dr hab. Iriny Kowalskiej, Dziekana Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 9.01.2019 r.

Przedstawioną poniżej ocenę przeprowadziłem na podstawie dostarczonych mi wersji elektronicznych i wersji drukowanych, następujących materiałów: autoreferatu w języku polskim i w j. angielskim, wykazu opublikowanych przez Habilitanta prac naukowych i analizy bibliometrycznej w języku polskim i angielskim, osiągnięcia naukowego pt. „Analiza czynników molekularnych jako potencjalnych biomarkerów diagnostycznych, prognostycznych i predykcyjnych w rakach płuca i jajnika”, oświadczeń współautorów, kopii wybranych publikacji, kopii dyplomu doktora nauk medycznych i pism administracyjnych.

Ocena formalna

Otrzymane przeze mnie materiały spełniają wymogi formalne określone w Ustawie z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789).

Przebieg pracy zawodowej

Pan dr n. med. Radosław Charkiewicz w roku 2008 uzyskał tytuł magistra analityki medycznej na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Praca magisterska pt: „*Aktywność fosfatazy*

alkalicznej w neutrofilach u pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową” została wyróżniona w Ogólnopolskim Konkursie Prac Dyplomowych w czasie IX Zjazdu Kolegium Medycyny Laboratoryjnej w 2009.

W roku 2014 Habilitant uzyskał stopień doktora nauk medycznych (Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku). Temat rozprawy doktorskiej: „*Ocena ekspresji czynników limfangiogenicznych w guzach pierwotnych u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca*” (promotor: prof. dr hab. L. Chyczewski).

Wg danych z autoreferatu, Habilitant rozpoczął pracę w dniu 01. 01. 2012 r. w Zakładzie Klinicznej Biologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku jako – pracownik naukowo-techniczny (starszy technik) W Jednostce tej pracuje do dzisiaj – obecnie na stanowisku starszego specjalisty.

Ocena merytoryczna osiągnięcia naukowego pt. „Analiza czynników molekularnych jako potencjalnych biomarkerów diagnostycznych, prognostycznych i predykcyjnych w rakach płuca i jajnika”.

Osiągnięcie naukowe tworzą cztery publikacje (łącznie *Impact Factor* tych publikacji: 12.612; liczba punktów MNiSW: 95), które zostały opublikowane w recenzowanych międzynarodowych czasopismach naukowych.

Habilitant w osiągnięciu naukowym przedstawił nowatorski sposób wykorzystania diagnostyki molekularnej w procesie diagnostyczno-terapeutycznym pacjentów chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca czy raka jajnika a wyniki tych badań mogą być uznane jako nowe czynniki rokownicze.

Habilitant podaje swój udział w trzech pracach na poziomie 80% i w jednej pracy na poziomie 40%. W pierwszych trzech pracach udział pozostałych autorów można oszacować na średnim poziomie 2,2 - 3,3%, w czwartej średnio po 15%. Niestety, udział współautorów jest przedstawiony opisowo w poszczególnych oświadczeniach, bez deklaracji udziału procentowego w pracy – uważam, że powinno to zostać uzupełnione do czasu posiedzenia Komisji w tej sprawie. Załączenie przez Habilitanta jednolitych oświadczeń z procentowym udziałem wszystkich współautorów czterech publikacji (łącznie z Habilitantem), będących przedmiotem osiągnięcia naukowego, jest niezbędne do jednoznacznej i uzgodnionej ze współautorami oceny udziału Habilitanta w poszczególnych publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe.

Nie do końca też zrozumiałe dla recenzenta są własne oświadczenia Habilitanta, umieszczone w załączniku „Oświadczenia współautorów”, jako zgody na wykorzystanie czterech własnych prac stanowiących osiągnięcie naukowe we własnym postępowaniu habilitacyjnym.

Osiągnięcie naukowe jest wynikiem kilkuletnich prac badawczych prowadzonych przez Habilitanta w kilkuosobowym zespole interdyscyplinarnym: lekarzy i diagnostów. Potwierdza to umiejętność skutecznej współpracy Habilitanta w naukowym zespole współautorów. Praktyczne wykorzystanie molekularnych, wielkoskalowych technik pomiarowych w osiągnięciu naukowym wpisuje się w najnowsze trendy współczesnej medycyny translacyjnej i współczesnej medycyny „P”: *precision, personalized, preventive, predictive, pharmacoterapeutic and patient participatory*.

Autor krytycznie odniósł się do wyników swoich badań, ze świadomością ograniczeń i trudności badawczych – np. wyboru kontroli endogennych przy badaniu ekspresji genów. Dociekliwość naukowa zaowocowała wypracowaniem skutecznej procedury badawczej z szerokim wykorzystaniem również innych badań, klinicznych czy histopatologicznych.

Publikacja 1: Charkiewicz R, Pilz L, Sulewska A, Kozłowski M, Niklińska W, Moniuszko M, Reszeć J, Manegold C, Nikliński J. Validation for histology-driven diagnosis in non-small cell lung cancer using hsa-miR-205 and hsa-miR-21 expression by two different normalization strategies. (2016) *Int J Cancer*. 138(3):689-97. IF: 6.513; MNiSW: 40.

Ważnym osiągnięciem Habilitanta jest praktyczne potwierdzenie znaczenia normalizacji wyników badań ekspresji genów poprzez właściwy dobór wiarygodnych genów referencyjnych i walidacji metody badawczej, jako narzędzia diagnostycznego. Otrzymane wyniki badań posłużyły identyfikacji dwóch markerów molekularnych: *hsa-miR-205* i *hsa-miR-21*, różnicujących podtypy raka płuca.

Publikacja 2: Charkiewicz R, Nikliński J, Claesen J, Sulewska A, Kozłowski M, Michalska-Falkowska A, Reszeć J, Moniuszko M, Naumnik W, Niklińska W. Gene Expression Signature Differentiates Histology But Not Progression Status of Early-Stage NSCLC. (2017) *Transl Oncol*. 10(3):450-458. IF: 3,071; MNiSW: 25

W pracy zastosowano analizy mikromacierzowe 30.000 wariantów transkryptomycznych w celu profilowania ekspresji genów w komórkach we wczesnych

stadiach zaawansowania niedrobnokomórkowego raka płuca. Habilitant zidentyfikował specyficzne profile ekspresyjne różniące raki gruczołowe i raki płaskonabłonkowe płuca. W grupie zidentyfikowano i zwalidowano 53 markery różnicujące, podając swoistość (88%) i czułość (100%) testu dla typowania raka gruczołowego płuca. W analizie mikromacierzowej nie wykazano ekspresyjnych profili różnicujących pacjentów względem różnej progresji nowotworu w czasie 3-letniego przeżycia.

Na podstawie specyficznych profili ekspresyjnych, Autor przedstawił również koncepcję heterogenności molekularnej guza pierwotnego i guzów przerzutowych. Ustalił, że wyniki badań molekularnych dają podstawę klasyfikacji podtypów tego nowotworu oraz identyfikacji czynników prognostycznych w ocenie skuteczności/braku skuteczności leczenia operacyjnego.

Opis problemu heterogenności molekularnej raka płuca kontynuował dr n. med. R. Charkiewicz w pracy nr 3 osiągnięcia naukowego.

Publikacja 3: Charkiewicz R, Niklińska W, Zalewski G, Charkiewicz A, Kozłowski M, Sulewska A, Chyczewski L. New monoallelic combination of KRAS gene mutations in codons 12 and 13 in the lung adenocarcinoma. (2013) *Adv Med Sci.* 58(1):83-9. IF: 0.964; MNiSW: 15

Habilitant analizował molekularnie wcześniej nieopisany przypadek podwójnej kombinacji mutacji w kodonach 12 i 13 genu *KRAS* u pacjenta z gruczolakorakiem płuc. Dzięki zastosowanej metodyce, stwierdził obecność tej mutacji w ognisku pierwotnym i jej brak w ognisku przerzutowym. Było to pierwsze doniesienie na ten temat, nie zarejestrowane do tej pory w bazie danych *COSMIC*. Opisana przez Habilitanta heterogenność molekularna może mieć znaczenie rozstrzygające w doborze terapii.

Publikacja 4: Kuć P, Charkiewicz R, Klasa-Mazurkiewicz D, Milczek T, Mroczo B, Nikliński J, Laudański P. Profiling of selected angiogenesis-related genes in serous ovarian cancer patients. (2017) *Adv Med Sci.* 62(1):116-120. IF: 2.064; MNiSW: 15

W kolejnej pracy Habilitant analizował poziom ekspresji 84 genów biorących udział w angiogenezie w 20 rakach jajnika (vs. 9 preparatów kontrolnych). Z tej grupy, 46 genów wykazywało wyższy poziom ekspresji w komórkach raka. Habilitant analizował 3 produkty

białkowe genów o najwyższym poziomie ekspresji transkryptu w tkance guza i wskazał na jeden z nich - angiopoetynę 2 - jako markera przeżycia wolnego od progresji w raku jajnika.

Podsumowując tę część recenzji, Habilitant w osiągnięciu naukowym przedstawił jednotematyczny cykl czterech, oryginalnych prac naukowych, dotyczących uniwersalnej procedury kompleksowego wykorzystania najnowszych molekularnych technik wysokowydajnych w diagnostyce i procesie rokowniczym pacjentów chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca lub raka jajnika.

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe stanowi spójną koncepcję badań i wpisuje się we współczesny nurt badań patogenezy nowotworów. Dzięki profilowaniu genetycznemu Autor uzyskał informacje o nowych biomarkerach choroby nowotworowej.

W osiągnięciu naukowym Habilitant zastosował trudne technicznie metody molekularne, w tym analizy miRNA czy analizy mikromacierzowe z doskonałą interpretacją otrzymanych wyników, co wskazuje na bardzo dobre przygotowanie Habilitanta do dalszej samodzielnej pracy naukowej.

Osiągnięcie naukowe całkowicie spełnia wymogi przedstawione w Art. 16. Ustawy z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789).

Ocena aktywności naukowej

W czasie pracy zawodowej, Habilitant uzyskał trzy stypendia naukowe: dla doktorantów (2010) w ramach projektu „Wyższa jakość kształcenia kluczem do rozwoju Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku”, w ramach Działania 4.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki 2007-2013, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku; stypendium naukowe (2011) w ramach projektu „Podlaska Strategia Innowacji – budowa systemu wdrażania”, Działania 8.2 – Transfer wiedzy, Poddziałanie 8.2.2. – Regionalne Strategie Innowacji, Priorytet VIII Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego, Budżetu Państwa oraz ze Środków Budżetu Województwa Podlaskiego i stypendium doktoranckie (2012) w ramach projektu „Studiuje, badam, komercjalizuję – program wsparcia doktorantów UMB” współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

Był współwykonawcą analiz molekularnych w ramach zadania „Zintegrowana analiza genomu i transkryptomu” w Konsorcjum naukowym w strukturach projektu pn.: „Stworzenie referencyjnego modelu Diagnostyki Personalizowanej Guzów Nowotworowych w oparciu o analizę heterogenności guza z wykorzystaniem biomarkerów genomowych, transkryptomu i metabolomu oraz badań obrazowych PET/MRI jako narzędzia do wdrażania i monitorowania terapii zindywidualizowanej”, STRATEGMED, Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR), Nr projektu: STRATEGMED2/266484/2/NCBR/2015.

Wysokie kompetencje naukowe Habilitanta zostały potwierdzone udziałem w grantach naukowych - kierował lub był wykonawcą w 21 krajowych projektach naukowych.

W czasie pracy zawodowej Habilitant podnosił swoje kwalifikacje – odbył 10 kilkudniowych staży w krajowych ośrodkach naukowych.

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora (od 2015 r.) Kandydat był autorem/współautorem publikacji o współczynniku $IF=31,588$ (łącznie z punktacją z 4 publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe; publikacje Autora były cytowane 150-162 razy (zależnie od bazy danych) a indeks „h” = 8 lub 9, zależnie od bazy.

Wg analizy bibliometrycznej, Habilitant był autorem/współautorem doniesień zjazdowych - 8 na konferencjach krajowych i 8 na konferencjach międzynarodowych.

Efektom prac naukowych jest patent: wynalazek „Biosensor do oznaczania podopłaniny” za pomocą metody SPRI (2015, nr R2C-152-242/11-PAT 1481).

Habilitant był recenzentem artykułów naukowych w dwóch czasopismach z listy JCR.

Stwierdzam, że osiągnięcia naukowe konsekwentnie prowadzone po otrzymaniu stopnia doktora, stanowią znaczny wkład Autora w rozwój określonej dyscypliny naukowej. Habilitant wykazał się istotną aktywnością naukową i jest specjalistą w swojej dziedzinie; w szczególności – kompleksowym wykorzystaniem najnowszych molekularnych technik wielkoskalowych (typu *high-throughput*).

Ocena osiągnięć dydaktycznych, współpracy z organizacjami, instytucjami i towarzystwami naukowymi oraz działalności popularyzującej naukę.

Habilitant od roku 2008 prowadził seminaria, ćwiczenia i zajęcia fakultatywne dla studentów kierunków: Analityka Medyczna, Farmacja i Lekarski.

Był opiekunem naukowym dwóch magistrantów.

Habilitant prowadził szkolenia podyplomowe: zajęcia teoretyczno-praktyczne „Techniki mikromacierzy DNA” w ramach kursu specjalizacyjnego „Biologia molekularna” dla lekarzy patologów.

Sprawował opiekę naukową nad lekarzami w toku specjalizacji.

Habilitant był promotorem pomocniczym w jednej rozprawie doktorskiej.

Habilitant był członkiem komitetu redakcyjnego w jednym czasopiśmie.

Jest członkiem 4 towarzystw naukowych.

Otrzymał krajowe nagrody za prace wygłoszone na konferencjach oraz nagrody naukowe Rektora.

Wniosek końcowy

Dorobek naukowy oraz inne aktywności dr. n. med. Radosława Charkiewicza są bardzo obszerne a prace naukowe mają znaczące i unikalne walory poznawcze i praktyczne. Osiągnięcie naukowe oceniam wysoko. Doskonale przygotowanie warsztatowe, krytyczna dyskusja uzyskanych wyników i ostrożne wnioskowanie, potwierdzają rozległą wiedzę Kandydata w zakresie technik profilowania kwasów nukleinowych.

W mojej opinii, osiągnięcie naukowe oraz całkowity dorobek Habilitanta spełniają wszystkie wymogi w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna, określone w Ustawie z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789).

W związku z powyższym, zwracam się z wnioskiem do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie dr. n. med. Radosława Charkiewicza do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Kierownik
Katedry Genetyki Medycznej
i Zakładu Genetyki Klinicznej
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Prof. dr hab. n. med. Janusz Kocki