

*Prof. dr hab. Ryszard Oliński
Katedra i Zakład Biochemii Klinicznej
Uniwersytet M.Kopernika Collegium
Medicum w Bydgoszczy*

OCENA

Rozprawy habilitacyjnej oraz dorobku naukowego dr Katarzyny Klonowskiej

*tytuł rozprawy „Germinalne i somatyczne mutacje utraty funkcji w genach TSC1 i TSC2 –
rola w nowotworzeniu oraz związek z fenotypem człowieka*

Ocena rozprawy habilitacyjnej

Utrata integralności genomu powstająca w wyniku pojawienia się mutacji prowadzi do genetycznej patogenezy i związana jest często z utratą funkcji genów, odgrywających kluczową rolę w procesie kancerogenezy.

Przyjmuje się, że nowotwór złośliwy jest chorobą, której przyczyną jest niestabilność genomu, związana z obecnością zmian w DNA. Od dawna część naukowców koncentruje się na nielicznych genach, które mogą być czynnikiem decydującym o stabilności genomu, o przekształceniu się zdrowych komórek w nowotwór złośliwy. Niewątpliwie do tej grupy zaliczyć należy geny, którym przypisano rolę „stróżów” (ang. *Gatekeeper*, genów supresorowych). Badania różnorodności takich genów powinny przyczynić się do znalezienia odpowiedzi na niezwykle ważne i wciąż aktualne pytanie – jakie czynniki sprzyjają powstawaniu uszkodzeń DNA i mutacji? Znalezienie odpowiedzi na to pytanie pozwoli z kolei na lepsze zrozumienie molekularnych podstaw transformacji nowotworowej komórki. Dobrze w problematykę zarysowaną powyżej wpisuje się tematyka recenzowanej rozprawy habilitacyjnej.

Dokładne analizy (germinalne i somatyczne), w genach supresorowych *TSC1* i *TSC2* stwardnienia guzowego (ang. *Tuberous Sclerosis Complex*) traktowane są/były trochę po macoszemu, w związku z czym obecnych jest wiele białych plam, które powoli są wypełniane wiarygodnymi danymi. Poznanie molekularnych zjawisk związanych z karcynogenezą ma z

całą pewnością olbrzymie znaczenie zarówno w naukach podstawowych jak i praktyce lekarskiej. Dlatego tematyka rozprawy habilitacyjnej dr Katarzyny Klonowskiej bezpośrednio związana z opisanymi powyżej zagadnieniami, jest atrakcyjna, aktualna i w pełni uzasadniona. Wybór tematyki pracy dodatkowo usprawiedliwia stosunkowo niewielka ilość prac poświęconych bezpośrednio badaniom mechanizmów molekularnych prowadzących do rozwinięcia się TSC.

Celem badań wchodzących w skład osiągnięcia naukowego Autorki było „scharakteryzowanie germinalnych i somatycznych wariantów/mutacji utraty funkcji w genach *TSC1* i *TSC2*) u pacjentów z TSC i pacjentów z różnymi typami nowotworów oraz określenie ich związku z fenotypem”. Cel główny został rozwinięty w postaci celów szczegółowych dotyczących:

- analizy wariantów germinalnych i tych o charakterze mozaikowym w obu genach *TSC*,
- opracowanie ultraczułej metody MPS i zastosowanie tej techniki do charakterystyki somatycznych mutacji w genie *TSC2* o niskiej częstości allelicznej,
- ewaluacji eksomu w terapii everolimusem u pacjentów z różnymi typami nowotworów z mutacjami w obu genach *TSC*.

Powyżej opisany zestaw zadań, na których koncentrowała się Habilitantka dotyczył słabo poznanych lub niewyjaśnionych zjawisk związanych z poznaniem molekularnych mechanizmów rozwoju TSC, co wiąże się bezpośrednio z występowaniem mutacji genów *TSC*.

Analizy w/w parametrów były podejmowane wielokrotnie, o czym wspomina Habilitantka, jak się wydaje z jednego powodu; geny kodujący białko *TSC1* i *TSC2* pełnią rolę supresora nowotworowego i bardzo często ulegają mutacjom w wielu typach nowotworów. Trzeba podkreślić, że Kandydatka znalazła niszę tematyczną która, czyni Jej eksperymenty oryginalnymi.

Należy stwierdzić, że wszystkie cele pracy zostały osiągnięte (patrz niżej). Powyższy sąd/twierdzenie wysunięte przez recenzenta może, z definicji okazać się subiektywne. Żeby znacząco pokreślić jego obiektywizację trzeba sięgnąć do narzędzi, które w nauce sprawdzają się najlepiej tzn. do jakości publikacji w których wyniki eksperymentów Habilitantki zostały szczegółowo opisane. Poniżej aspekty wskazujące na oryginalność tematyki badań dr Katarzyny Klonowskiej, wraz z notą bibliograficzną i krótkim opisem „wagi” naukowej czasopism w których znajduje się obszerna charakterystyka wyników eksperymentów wraz z ich interpretacją.

- Analiza mozaikowości w genach *TSC1/TSC2* przeprowadzona na znaczącej statystycznie grupie pacjentów (300 próbek pobranych od 95 pacjentów. Takie badanie może być pomocne w profilaktyce TSC u pacjentów. **Klonowska K, et al Comprehensive genetic and phenotype analysis of 95 individuals with mosaic Tuberous Sclerosis Complex**, *American Journal of Human Genetics*, 2023, 110(6):979-988. -IF=11.8, MNiSW=200, Liczba cytowań=18
- Wspomniana wyżej analiza mozaikowości jak również przypadek pacjentki o łagodnym fenotypie TSC ze sporadycznie współwystępującymi guzami (patrz poniższa publikacja) podkreślają ogromną wagę dokładnego rozpoznania cech klinicznych, wspomnianych analiz dla osób z podejrzeniem mozaikowości w genach *TSC1/TSC2*.

Klonowska K, et al Sporadic facial angiofibroma and sporadic angiomyolipoma mimicking tuberous sclerosis complex. *Journal of Medical Genetics*, 2022, 59(9):920-923. IF=6.451 MNiSW=140, Liczba cytowań =1

- Ekspertyza Habilitantki chorych na TSC w guzach skóry, wykazała dużą ilość mutacji somatycznych, generowanych przez promieniowanie ultrafioletowe (UV) w genie *TSC2* występująca w skórze twarzy pacjentów z TSC. Takie mutacje mogą prowadzić w konsekwencji do w klinicznie rozpoznawalnych guzów. Powyżej opisane analizy podkreślają

znaczenie stosowania kremów z filtrem przeciwsłonecznym, które ograniczają narażenie twarzy na promieniowanie UV u osób z TSC. **Klonowska K, et al... Ultrasensitive profiling of UV-induced mutations identifies thousands of subclinical facial tumors in tuberous sclerosis complex.** *Journal of Clinical Investigation*, 2022, 132(10):e155858 IF=19.477; MNiSW=200, Liczba cytowań =4.

- Opisane powyżej osiągnięcia powstały, w dużej mierze, dzięki opracowaniu przez Autorkę ultraczułej metody (MHPA) opracowanej na podstawie wyników pracy Habilitantki wchodzących w skład niniejszego osiągnięcia. Jest to metodyka, która może być stosowana szeroko w opisanu/diagnozowaniu trudno wykrywalnych mutacji o niskiej częstości allelicznej u pacjentów z TSC, jak również u osób z innymi chorobami genetycznymi w różnych kontekstach, na przykład w analizie w biopsjach guzów o niskiej zawartości komórek nowotworowych, czy w ostatnio często opisywanych mutacji w wolnym pozakomórkowym DNA (ang. *cel- free DNA*, cfDNA). **Klonowska K, et al... Ultrasensitive profiling of UV-induced mutations identifies thousands of subclinical facial tumors in tuberous sclerosis complex.** *Journal of Clinical Investigation*, 2022, 132(10): IF=19.232 MNiSW=200, Liczba cytowań =4
- Wyniki analizy eksomu w próbkach klinicznym u pacjentów w terapii everolimusem z różnymi typami nowotworów z mutacjami w genach *TSC1/TSC2* sugerują, że mutacje somatyczne związane z inaktywacją genów *TSC2* oraz *NF1* mogą być także związane z pozytywną odpowiedzią na terapię ewerolimusem u pacjentów z mięsakiem gładkokomórkowym macicy. Adib E[#], Klonowska K[#], et al **Phase II Clinical Trial of Everolimus in a Pan-Cancer Cohort of Patients with mTOR Pathway Alterations.** *Clinical Cancer Research*, 2021, 27(14):3845-3853. IF=12.836. MNiSW=200, Liczba cytowań =27

Wszystkie przedstawione wyniki badań Habilitantki są w pełni oryginalnymi osiągnięciami naukowymi. Sądzę jednak, że na największe wyróżnienie zasługuje część,

elegancko zaplanowanych i przeprowadzonych, badań opublikowanych w „topowym” czasopiśmie *Journal of Clinical Investigation*, 2022. (Habilitantka była tutaj pierwszą i jednocześnie korespondencyjną Autorką). Badania te dotyczyły strukturalnych i biochemicznych właściwości adduktów generowanych przez promieniowanie UV w guzach twarzy chorych na TSC. Jedna uwaga dotycząca perspektywy dalszych badań Habilitantki. Autorka dysponuje niezwykle czułą techniką wykrywania mutacji (opisaną powyżej techniką MHPA). Końcowy rezultat oddziaływania dawka-efekt promieniowanie UV zależy od ilości pochłoniętej dawki radiacji i efektywności usuwania indukowanych adduktów. Addukty generowane przez promieniowanie UV są usuwane przez enzymy naprawy uszkodzeń DNA typu Nucleotide Excision Repair (NER), które ulegają zmianom mutacyjnym w wielu chorobach nowotworowych. Może warto wykonać takie analizy u pacjentów TSC?

Szczegółowy zestaw zadań, na których koncentrowała się Habilitantka dotyczył słabo poznanych lub niewyjaśnionych zjawisk związanych z poznaniem molekularnych mechanizmów rozwoju TSC. Poznanie w/w zjawisk leżących u podstaw rozwoju TSC ma, z całą pewnością, duże znaczenie zarówno w naukach podstawowych jak i praktyce lekarskiej.

Podsumowując wyniki badań przedstawionych jako „osiągnięcie naukowe rozprawy habilitacyjnej”; są to oryginalne odkrycia naukowe, które wniosły nowe dane do nauki światowej i dzięki opublikowaniu w renomowanych czasopismach międzynarodowych, z wysokim współczynnikiem oddziaływania, weszły do międzynarodowego obiegu informacji naukowej. Z tego względu w pełni pozytywnie i bardzo wysoko oceniam rozprawę habilitacyjną. W moim przekonaniu spełnia ona wymogi stawiane rozprawom habilitacyjnym. Warto dodać, że Habilitantka jest 1-szą autorką w czterech z siedmiu w/w prac.

Ocena dorobku naukowego/aktywności naukowej

Na dorobek naukowy dr Klonowskiej, poza habilitacją, składa się 15 oryginalnych prac doświadczalnych. Prace te opublikowane zostały w znakomitej większości w dobrych i bardzo dobrych czasopismach naukowych o zasięgu światowym. Tak jak zaznaczyłem powyżej, większość prac Habilitantki została opublikowana w specjalistycznych czasopismach, recenzowanych najczęściej przez wybitnych specjalistów z danej dziedziny. W ten sposób dorobek naukowy Habilitantki został więc wstępnie już raz pozytywnie zweryfikowany.

Chciałbym zwrócić szczególną uwagę na wyróżniającą się jakość czasopism, w których publikowano wszystkie, bez wyjątku prace dr Katarzyny Klonowskiej. Łączny IF opublikowanych prac Autorki wynosi 152 pkt. Liczba cytowani Habilitantki wynosi 523 (krzywa zależna od czasu wznosi się stromo). *Indeks Hirsza* jest równy 12 (Według *Web of Science Core Collection*), a liczba punktów MNi SzW 2920!

Jest to dorobek niezbyt często spotykany nawet wśród liderów dużych grup badawczych. Warto podkreślić, że w 12 publikacjach (na 22 prac doświadczalnych) opublikowanych, w czasopismach z listy filadelfijskiej) Habilitantka jest pierwszym autorem, co jednoznacznie uwypukla Jej dominujący wkład w pracę.

Aktywność naukowa to nie tylko publikacje, ale umiejętność pozyskiwania środków na uprawianie nauki. Bez cienia przesady działalność Habilitantki jest tutaj co najmniej dobra.

Dr Klonowska była/jest kierownikiem dwóch projektów finansowanych przez: Narodowe Centrum Nauki (NCN) oraz prestiżowego TSC Alliance Postdoctoral Fellowship. Do tego trzeba dodać 10 projektów finansowanych przez znamienite instytucje amerykańskie, w których Habilitantka była wykonawcą. Autorka jest także zaangażowana w wiele projektów realizowanych we współpracy z naukowcami polskimi i zagranicznymi.

Omawiana aktywność była wielokrotnie nagradzana jako rezultat:

- Stypendium w kategorii habilitacyjnej w programie 'L'Oreal-UNESCO dla Kobiet i Nauki, w roku 2024.

- Research Excellence Award w roku 2020 i 2021 za wyróżniające się osiągnięcia naukowe, przyznana przez The Brigham Research Institute's Research Oversight Committee (Brigham and Women's Hospital, Boston, USA)

- Udziału w prestiżowej Akademii Młodych Uczonych PAN jako członek w kadencji 2024-2029, na podstawie wyborów na 151 Sesji Zgromadzenia Ogólnego PAN.

W trakcie stażu podoktorskiego oraz obecnej kontynuacji współpracy z Dr David'em Kwiatkowskim (patrz niżej), była/jest zaangażowana w 10 projektach naukowych.

Jednym z kryteriów oceny Kandydata do habilitacji jest także udział w stażach międzynarodowych (długo okresowych). W latach 2018-2023 Habilitantka odbyła długoterminowy staż podoktorski pod kierunkiem Dr David'a Kwiatkowskiego w Brigham and Women's Hospital i Harvard Medical School w Bostonie. Dr David Kwiatkowski jest światowym liderem w genetyce TSC. Jest członkiem Broad Institute of MIT and Harvard oraz programu The Cancer Genome Atlas (TCGA); lider programu Cancer Genetics w Dana-Farber/Harvard Cancer Center]. Od roku 2018 Habilitantka pełni również funkcję post-doc'a/członka afiliowanego w Broad Institute of MIT and Harvard w Cambridge w programie 'cancer program'.

To nie koniec wydarzeń, które podkreślają wyjątkową aktywność naukową ponieważ Habilitantka brała aktywny udział w kilkudziesięciu konferencjach międzynarodowych i krajowych, najczęściej prezentując plakaty, ale również jako wykładowczyni.

Podsumowując rozdział pt. „Aktywność naukowa..”, nie mam najmniejszej wątpliwości, że na tym etapie rozwoju naukowego jest to działalność wyróżniająca.

Przebieg aktywności dydaktycznej Habilitantki odbiega od zwyczajowo przyjętej na uczelniach krajowych. Doświadczenie dydaktyczne dr K. Klonowska zdobywała przede wszystkim na uczelniach amerykańskich, jako Post-doc w Harvard Hospital- Medical School w Bostonie, USA. Sprawowała opiekę nad 6 studentami (uczniowie liceum, college'u oraz studiów magisterskich, w tym studenci Massachusetts Institute of Technology (MIT) i Boston University. Opiekowała się również post-doc'iem Victorią-Elisabeth Gruber podczas stażu w Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School(Boston, W Kraju sprawowała opiekę nad doktorantami w ramach realizacji kierowanego przez nią grantu OPUS25.

Warto również zwrócić uwagę na wygłoszenie wykładu dla studentów Kitasato University – Exchange Program 2022, organizowanego we współpracy między Department of Biosciences, School of Science, Kitasato University (Tokio, Japonia) i Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School (Boston, USA).

Od stycznia 2024 roku Habilitantka jest kierownikiem Zakładu Genetyki Nowotworów w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

Jestem przekonany, że rozprawa habilitacyjna dr K. Klonowskiej spełnia wszystkie warunki stawiane rozprawom habilitacyjnym. Wniosła Ona do nauki światowej nowe stwierdzenia dotyczące molekularnych mechanizmów rozwoju TSC. Dorobek naukowy w pełni uzasadnia nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk biologicznych, w zakresie biochemia

. Obok wysoko ocenionej przeze mnie rozprawy habilitacyjnej oraz dorobku naukowego chciałbym zwrócić uwagę na inne aspekty działalności Habilitanta świadczące, w moim przekonaniu, także o Jej dojrzałości naukowej i zdolności do samodzielnej pracy. Mam tu na myśli Jej pozycję w bardzo wymagającym środowisku amerykańskim.. Warto również zwrócić

uwagę na umiejętność inspiracji młodych pracowników wyrażającą się opieką naukową dr Klonowskiej nad siedmioma doktorantami i magistrantami.

W oparciu o pozytywną ocenę rozprawy habilitacyjnej i dorobku naukowego wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN o dopuszczenie dr Katarzyny Klonowskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.



Bydgoszcz 3 grudzień 2025 roku