

prof. dr hab. n. o zdr. inż. Aleksander J. Owczarek
Zakład Promocji Zdrowia i Leczenia Otyłości
Katedra Patofizjologii
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Ul. Medyków 18
40-752 Katowice

**Ocena dorobku naukowo-badawczego, głównego osiągnięcia naukowego
pt.: „*Precyzyjna identyfikacja rzadkich wariantów genetycznych w danych pochodzących
z sekwencjonowania DNA wysokiej przepustowości*”
oraz osiągnięć dydaktycznych i organizacyjnych, wraz z opinią dotyczącą wniosku o nadanie
dr n. tech. Tomaszowi Stokowemu stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk
medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne,
sporządzana na prośbę Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego,
zgodnie z uchwałą nr 152/2021 z dnia 23 września 2021 r.**

Recenzja została opracowana na podstawie art. 219 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z dnia 30 sierpnia 2018 r, z poz. 1668 ze zm.).

Recenzję opracowano na podstawie dokumentacji przedłożonej przez dr n. tech. Tomasza Stokowego, zawierającej:

- 1) Wniosek z dnia 15 lutego 2021 r. o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne
- 2) Autoreferat w języku polskim
- 3) Kopie publikacji stanowiących główne osiągnięcie naukowe wraz z oświadczeniami ich współautorów
- 4) Potwierdzenie uzyskania stopnia doktora nauk technicznych (kopia dyplomu)
- 5) Analizę bibliometryczną publikacji Habilitanta przygotowaną przez Bibliotekę Główną GUM z dnia 27 listopada 2020 r.
- 6) Wykaz osiągnięć naukowych stanowiących znaczny wkład Habilitanta w rozwój dyscypliny nauk medycznych i nauk o zdrowiu
- 7) Dane teleadresowe wnioskodawcy

1. Sylwetka Kandydata

Dr n. tech. Tomasz Stokowy jest absolwentem Wydziału Automatyki, Elektroniki i Informatyki Politechniki Śląskiej w Gliwicach, który ukończył w 2009 r. uzyskując dyplom magistra inżyniera. W latach 2012-2013 odbył staż naukowy na Uniwersytecie w Lipsku. W roku 2013, na Wydziale Automatyki, Elektroniki i Informatyki Politechniki Śląskiej w Gliwicach obronił pracę doktorską (doktor nauk technicznych w dziedzinie biocybernetyka i inżynieria biomedyczna), dotyczącą molekularnych markerów raka tarczycy (różnicowania nowotworu pęcherzykowego tarczycy i gruczolaka pęcherzykowego tarczycy w oparciu od dane wysokiej przepustowości). W latach 2013-2016 odbył staż podoktorski na Wydziale Medycyny Uniwersytetu w Bergen. Habilitant był także pracownikiem laboratorium Yale School of Medicine w Stanach Zjednoczonych (2016-2017), a od 2016 r. pełni funkcję starszego inżyniera w Genomics Core Facility Uniwersytetu w Bergen. Od 2020 r jest także specjalistą naukowo-technicznym Centrum Analiz Biostatystycznych i Bioinformatycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

2. Ocena prac stanowiących główne osiągnięcie naukowe

Podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego jest jednotematyczny cykl 5 publikacji naukowych pt.: „*Precyzyjna identyfikacja rzadkich wariantów genetycznych w danych pochodzących z sekwencjonowania DNA wysokiej przepustowości*”. Łączna wartość współczynnika oddziaływania powyższych publikacji wynosi 27,841 oraz 270 punktów wg. MNiSW. W dwóch publikacjach Habilitant jest pierwszym autorem, a w jednej drugim. Wkład dr n. tech. Tomasza Stokowego w powstanie poszczególnych prac został szczegółowo omówiony w Autoreferacie.

W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

1. Stokowy T, Garbulowski M, Fiskerstrand T, et al. RareVariantVis: new tool for visualization of causative variants in rare monogenic disorders using whole genome sequencing data. *Bioinformatics*. 2016 Oct 1;32(19):3018-20.
2. Ngungcu T, Oti M, Sitek JC, Haukanes BI, Linghu B, Bruccoleri R, Stokowy T, et al. Duplicated Enhancer Region Increases Expression of CTSB and Segregates with Keratolytic Winter Erythema in South African and Norwegian Families. *Am J Hum Genet*. 2017 May 4;100(5):737-750.
3. Supernat A, Vidarsson OV, Steen VM, Stokowy T. Comparison of three variant callers for human whole genome sequencing. *Sci Rep*. 2018 Dec 14;8(1):17851.
4. Bredrup C, Stokowy T, McGaughan J, et al. A tyrosine kinase-activating variant Asn666Ser in PDGFRB causes a progeria-like condition in the severe end of Penttinen syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2019 Apr;27(4):574-581.

5. Stokowy T, Polushina T, Sønderby IE, et al. Genetic variation in 117 myelination-related genes in schizophrenia: Replication of association to lipid biosynthesis genes. *Sci Rep.* 2018 May 2;8(1):6915.

Celem osiągnięcia naukowego Habilitanta było stworzenie i wykorzystanie nowych metod analizy genomu do precyzyjnej identyfikacji wariantów DNA będących przyczyną chorób o podłożu genetycznym.

Tematyka publikacji dr n. tech. Tomasza Stokowego skupia się na metodach diagnostyki spersonalizowanej w leczeniu rzadkich chorób genetycznych i nowotworowych w oparciu o unikatowe dane wysokiej przepustowości.

W pierwszej publikacji – w mojej opinii najważniejszej w cyklu – Habilitant opracował, zaimplementował i opublikował, w jednym z bardziej znaczących czasopism z zakresu bioinformatyki, narzędzie informatyczne RareVariantVIS (w języku R) umożliwiające realizację operacji filtrowania, adnotacji i wizualizacji rzadkich wariantów genetycznych i regionów utraty heterozygotyczności, a także wykorzystanie szeregu narzędzi bioinformatycznych w dalszej obróbce danych. Unikalność rozwiązania w postaci jednoczesnego automatycznego filtrowania wariantów wraz z wizualizacją całych chromosomów i oznaczeniem częstości alternatywnych alleli umożliwia, w niektórych przypadkach, identyfikację wariantów strukturalnych, niemożliwych do detekcji innymi metodami. Opracowanie powyższej biblioteki w środowisku Bioconductor uważam za niezwykle istotny wkład Habilitanta w rozwój zarówno dziedziny jaką jest bioinformatyka, jak również środowiska naukowego mającego możliwość wykorzystania pakietu we własnych badaniach danych wysokiej przepustowości. Na dzień sporządzenia recenzji praca ta miała 5 cytowań wg. Scopus.

Kolejną publikacją stanowiącą istotny wkład w oprogramowanie metod bioinformatycznych jest praca dotycząca germinalnych wariantów genetycznych, w której dr n. tech. Tomasz Stokowy pełnił rolę tzw. senior authora, a która ukazała się w uznanym czasopiśmie *Scientific Reports*. Habilitant zrealizował test porównawczy oceniający w niezależny sposób jakość, precyzję oraz czułość i swoistość typowych metod wywoływania wariantów genetycznych (DeepVariant, biblioteki TensorFlow oraz bibliotek GATK i SpeedSeq) i wykazał, że metoda DeepVariant jest najdokładniejszą obecnie dostępną metodą wywoływania wariantów pojedynczego nukleotydu (SNV) – wartość wskaźnika F wynosząca 99,96% i krótkich insercji/delekcji – wartość wskaźnika F wynosząca 99,4%. Zastosowanie analizy opartej na metodach uczenia maszynowego oraz wykorzystanie akceleratorów graficznych NVIDIA, umożliwia w chwili obecnej najbardziej precyzyjne wywoływanie wariantów dla całego genomu, w czasie krótszym niż doba. Na dzień sporządzenia recenzji praca ta miała 17 cytowań wg. Scopus.

Należy zwrócić uwagę, że opracowanie powyższej biblioteki i metod badawczych pozwoliło na identyfikację nieznanych dotąd przyczyn kilku rzadkich chorób genetycznych, między innymi keratolitycznego rumienia zimowego (KEW; praca 2; 16 cytowań wg. Scopus) oraz syndromu Penttinena (praca 4; 8 cytowań wg. Scopus).

Efektorem prac Habilitanta było odkrycie przyczyn KWE, czyli duplikacji wzmacniacza w regionie genu *CTSB*, kodującego proteazę cysteinową odpowiedzialną za homeostazę keratynocytów. Zastosowanie pakietów *RareVariantBis* oraz *Variant Effect Predictor* i *SnEff* pakietu *Bioconductor*, a także języka *R* doprowadziło do identyfikacji przyczyny genetycznej KWE i umożliwiło rozpoczęcie diagnostyki genetycznej tego schorzenia. Metodologia zaproponowana przez dr n. tech. Tomasza Stokowego pozwoliła na wykrycie wariantu będącego przyczyną syndromu przedwczesnego starzenia, który nie został wykryty innymi metodami, ze względu na niskie pokrycie regionu. Oznaczona domena kinazy tyrozynowej *PDGFRB* stanowi miejsce aktywacji wariantów, między innymi, w takich schorzeniach jak mięśniako-włókninowość dziecięca, czy zespół przerostu Kosaki. Niezwykle istotnym aspektem tych badań było umożliwienie zastosowania imatynibu jako jednej z opcji terapeutycznej dla tych pacjentów, a skuteczne zastosowanie leczenia zostało potwierdzone w najnowszych badaniach przez Tarę L. Wenger (2020).

Ostatnią publikacją z cyklu głównego, w której Habilitant jest pierwszym autorem, opublikowaną także w *Scientific Reports*, była praca dotycząca roli rzadkich i częstych wariantów genetycznych związanych z biosyntezą kwasów tłuszczowych, odgrywających rolę w procesie mielinizacji pacjentów ze schizofrenią. Przeszukując bazę 117 wytypowanych genów związanych z mielinizacją, w grupie 35476 pacjentów ze schizofrenią oraz 46839 zdrowych ochotników wykazano, że warianty w zidentyfikowanych genach *SREBF1*, *SREBF2* oraz *LRP1* nie stanowią głównego czynnika ryzyka rozwoju schizofrenii. Na dzień sporządzenia recenzji praca ta miała 4 cytowania wg. *Scopus*.

Wspólną cechą badań naukowych i prac opublikowanych przez Habilitanta, stanowiących główne osiągnięcie naukowe, jest zastosowanie nowoczesnych metod bioinformatycznych, wykorzystanie języka *R*, metod sztucznej inteligencji oraz uczenia maszynowego i oprogramowania dostępnego w środowisku *Bioconductor* oraz *R CRAN*, w diagnostyce rzadkich chorób genetycznych i nowotworowych, w oparciu o unikatowe dane wysokiej przepustowości. Uzyskane wyniki znalazły praktyczne zastosowanie nie tylko w diagnostyce genomowej tych chorób (*start-up MNM*), ale także w ich leczeniu.

Analiza przedłożonych publikacji pozwala stwierdzić, że Habilitant posiada głęboką, szeroką wiedzę specjalistyczną w zakresie analiz bioinformatycznych, a także wykazuje się znaczną umiejętnością łączenia aspektów naukowych swoich badań z ich praktyczną implementacją.

3. Zestawienie dorobku naukowego

Habilitant opublikował łącznie 44 prace pełnotekstowe, w tym 3 prace ze współczynnikiem wpływu (Impact Factor – IF) o wartości 7,283 punktów przed doktoratem (75 punktów wg. MNIŚW), 36 prac o wartości IF wynoszącej 148,807 punktów po uzyskaniu stopnia doktora (IF publikacji, w których kandydat jest pierwszym autorem wynosi 22,939; 2460 punktów wg. MNIŚW) oraz 5 prac pełnotekstowych składających się na cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b. Ustawy, o wartości IF wynoszącej 27,841 (270 punktów wg. MNIŚW).

Łączna wartość współczynnika oddziaływania (IF) wynosi zatem 183,931 punktów, a punktacji wg. MNIŚW 2805 punktów. Łączna liczba cytowań (bez autocytowań) wynosi 489 wg. bazy Web of Science oraz 539 wg. bazy Scopus, a indeks Hirscha wynosi odpowiednio 14 oraz 15.

Spośród 39 prac pełnotekstowych (spoza cyklu stanowiącego główne osiągnięcie naukowe) w 5 publikacjach Habilitant jest pierwszym autorem, w 5 drugim, a w 6 trzecim autorem.

Należy podkreślić znaczną intensywność działalności naukowej Habilitanta, wyrażającą się istotnym wzrostem dorobku po uzyskaniu stopnia doktora, o czym świadczy zarówno znaczna wartość współczynnika oddziaływania (IF), jak i liczba cytowań oraz indeks Hirscha.

4. Ocena działalności badawczo-naukowej

Zainteresowania naukowe Habilitanta dotyczą akwizycji oraz przetwarzania danych biomedycznych, ze szczególnym uwzględnieniem metod bioinformatycznych w analizie chorób rzadkich. Prace prowadzone przez dr n. tech. Tomasza Stokowego pozwoliły na identyfikację istotnych wariantów genetycznych w kilku badaniach związanych z rzadkimi chorobami, co zostało udokumentowane w licznych publikacjach naukowych. Przegląd piśmiennictwa Habilitanta wskazuje na szerokie zainteresowania obejmujące, między innymi informatykę oraz bioinformatykę, biochemię, genetykę i biologię molekularną, szeroko rozumianą dziedzinę nauk medycznych, a także immunologię i mikrobiologię. Dr n. tech. Tomasz Stokowy publikował wyniki swoich prac badawczych w uznanych czasopismach, między innymi w Scientific Reports, Cancers, International Journal of Molecular Sciences, czy Molecular and Cellular Endocrinology.

Zwraca uwagę zaangażowanie Habilitanta we współpracę z różnymi jednostkami badawczymi takimi jak Gdański Uniwersytet Medyczny czy Radboud University Nijmegen, które zaowocowały pracami dotyczącymi raka piersi i jajnika (opracowanie testów genetycznych opartych na smMIP umożliwiających automatyczną i niezawodną analizę sekwencji kodujących BRCA1 i BRCA2).

Dr n. tech. Tomasz Stokowy prezentował wyniki swoich badań naukowych (4 streszczenia zjazdowe i 3 wykłady plenarne) podczas konferencji i wizyt naukowych, między innymi w Stanach Zjednoczonych, Szwajcarii czy Norwegii. Był także współorganizatorem dwóch konferencji międzynarodowych (w Berlinie w 2013 r. oraz w Bergen w 2016 r.).

Istotny wkład do działalności naukowej dr n. tech. Tomasza Stokowego wniosły prace realizowane w ramach projektów krajowych oraz międzynarodowych. Spośród 9 zrealizowanych projektów, w tym 2 Narodowego Centrum Nauki oraz 1 Narodowego Centrum Badań i Rozwoju, tylko w jednym był kierownikiem i był go projekt dotyczący opracowania oprogramowania do analizy całego genomu z wykorzystaniem biblioteki RareVariantVis2. W chwili obecnej Habilitant realizuje 4 projekty badawcze (w tym 2 finansowane przez NCN), we wszystkich uczestnicząc jako wykonawca. Tematyka projektów badawczych obejmowała, między innymi, głębokie sekwencjonowanie w medycynie, medycynę spersonalizowaną, opracowanie narzędzia RareVariantVis, opracowanie molekularnych testów wspomagających wykrywanie wczesnego raka płuc czy analizy całego genomu. Należy zwrócić uwagę także na udział w grantach dotyczących profilaktyki przeciwnowotworowej, niezwykle istotnej z punktu widzenia zdrowia publicznego.

Habilitant nie jest członkiem żadnego komitetu redakcyjnego lub rady naukowej czasopisma, nie przedstawił też informacji, czy opracowywał recenzje w czasopismach naukowych. Od 2019 roku pełni rolę eksperta w Agencji Badań Medycznych. Ponadto recenzował wnioski badawcze dla Research Council Faroe Islands oraz aplikacje do Studium Medycyny Molekularnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Warto także nadmienić, że Habilitant jest współautorem zgłoszenia patentowego do Urzędu Patentowego Rzeczypospolitej Polskiej pt.: „Sposób analizy i klasyfikacji materiału biologicznego w wykrywaniu choroby nowotworowej”.

Niezwykle ważne – w mojej opinii – jest praktyczne zastosowanie wyników badań naukowych i ich transfer do procesów gospodarczych. Współpracę z sektorem gospodarczym umożliwia Habilitantowi założenie start-up’u naukowego MNM Diagnostics, w postaci spółki z ograniczoną odpowiedzialnością, realizującej tzw. biobankowanie fragmentów guzów nowotworowych w celu wykorzystania nowoczesnej diagnostyki genomowej oraz tzw. profilowanie całogenomowe.

5. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Działalność dydaktyczna Habilitanta została przedstawiona w sposób dość lakoniczny i prezentuje spis przedmiotów prowadzonych dla studentów Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Uniwersytetu w Bergen, Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Brak jest informacji dotyczącej kształcenia młodej kadry w zakresie realizacji prac magisterskich / licencjackich.

6. Podsumowanie

Dr n. tech. Tomasz Stokowy posiada istotny i bardzo wartościowy dorobek naukowy oraz wystarczający dorobek dydaktyczny. Prace badawcze prowadzone przez Habilitanta są spójne tematycznie i – w mojej opinii – świadczą o stałym rozwoju jego warsztatu badawczego w dziedzinie bioinformatyki. Ponadto Habilitant uczestniczył w konferencjach naukowych prezentując i poddając krytyce swoje osiągnięcia naukowe, był także wykonawcą wielu projektów badawczych, odbył staże naukowe, współpracuje i prowadzi badania naukowe z partnerami zarówno w kraju jak i zagranicą. W mojej opinii, dr n. tech. Tomasz Stokowy jest wysokiej klasy specjalistą w zakresie nowoczesnych metod analizy danych wysokoprzepustowych oraz dynamicznie rozwijających się metod bioinformatycznych.

Osiągnięcia habilitacyjne w postaci jednotematycznego cyklu publikacji, a także dorobek naukowo-dydaktyczny oraz działalność organizacyjna odpowiada wymogom stawianym w postępowaniu o stopień naukowy doktora habilitowanego, a sam Habilitowany spełnia kryteria samodzielnego, doświadczonego pracownika badawczo-dydaktycznego. W mojej opinii, wniosek Habilitanta o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauk medyczne jest uzasadniony, a **Habilitant spełnia wszystkie wymogi i kryteria określone w art. 219 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r., punkt 1 i 2 (Dz. U. z dnia 30 sierpnia 2018 r, z poz. 1668 ze zm.)**.

Popieram wniosek o nadanie dr n. tech. Tomaszowi Stokowemu stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne oraz zwracam się do Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Habilitanta do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Aleksander Owczarek
prof. dr hab. n. o zdr. inż.
Aleksander J. Owczarek
specjalista w dziedzinie epidemiologii