

Prof. dr hab. Anna Herman-Antosiewicz
Katedra Biologii i Genetyki Medycznej
Wydział Biologii
Uniwersytet Gdański
ul. W. Stwosza 59
80-308 Gdańsk
tel: 58 523 6034

Gdańsk, 25 października 2019 r.

**Recenzja osiągnięcia naukowego oraz pozostałego dorobku
pana dr Mateusza Bujko w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia
doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych (dyscyplina: biologia medyczna)**

Pan dr Mateusz Bujko uzyskał dyplom magistra inżyniera biotechnologii w 2003 r. po ukończeniu Międzywydziałowego Studium Biotechnologii w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Stopień doktora nauk medycznych uzyskał w 2010 r. na podstawie rozprawy pt. *Ocena wartości klinicznej zmian w genach naprawy DNA: MGMT, MLH1, MSH2, ATM i NBS1 dla skuteczności chemioterapii z zastosowaniem temozolomidu u chorych na glejaki o wysokim stopniu złośliwości*. Promotorem rozprawy był pan prof. dr hab. Janusz Aleksander Siedlecki, a przewód był przeprowadzony w Centrum Onkologii-Instytucie im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie. W jednostce tej pan dr Bujko jest zatrudniony od 2009 roku, najpierw jako młodszy specjalista w Samodzielnej Pracowni Diagnostyki Molekularnej, a od 2011 r. - jako adiunkt w Zakładzie Onkologii Molekularnej i Translacyjnej.

Opinia o osiągnięciu naukowym pt. *Zaburzenia metylacji DNA w wybranych nowotworach człowieka i ich znaczenie w patogenezie choroby nowotworowej*.

Na osiągnięcie naukowe pana dr Bujko składa się 9 prac eksperymentalnych opublikowanych w latach 2011-2018, z czego 8 jest w bazie Journal Citation Reports, o IF od 1,559 (*Molecular Medicine Reports* z 2015 r.) do 3,563 (*Molecular and Cellular Endocrinology* w 2018 r.). Suma punktów IF zgodnych z rokiem publikacji wynosi 20,61; a punktów MNiSW - 195. Wszystkie te publikacje są efektem pracy zespołu złożonego z 5-12 osób. Pan dr Bujko jest korespondującym autorem w 7 z tych prac. Wymieniony jest na pierwszym lub drugim miejscu równorzędnym z pierwszym w 8 pracach lub na ostatnim miejscu w 1 pracy. Z oświadczeń Habilitanta oraz 4 współautorów każdej z prac wynika, że miał On wiodącą rolę w ich powstaniu.

Warte jest podkreślenia, że publikacje te są efektem realizacji grantów, w których Habilitant był głównym wykonawcą lub kierownikiem.

Nowotworzenie jest procesem złożonym, wieloetapowym, a czynniki środowiskowe oraz predyspozycje osobnicze odgrywają w nim kluczowe role. U podstawy tego procesu niewątpliwie leżą zaburzenia funkcji genów. Składają się na nie mutacje, czyli dziedziczone zmiany sekwencji nukleotydów oraz zmiany epigenetyczne mające wpływ na wzór ekspresji genów i stabilność całych genomów, które również mogą być przekazywane do komórek potomnych. Nasza wiedza na temat zależności między stopniem metylacji DNA (jedną z najbardziej poznanych modyfikacji epigenetycznych) w obrębie całego genomu lub określonych jego części a biologią nowotworów jest ciągle niekompletna. Prace składające się na osiągnięcie naukowe pana dr Bujko doskonale te braki uzupełniają. Pokazują różnice w poziomie metylacji całych genomów lub określonych miejsc (promotorów genów, enhancerów, powtarzających się sekwencji) między komórkami nowotworowymi i prawidłowymi oraz próbują tłumaczyć znaczenie tych zmian w patogenezie chorób nowotworowych. W kręgu zainteresowań pana dr Bujko były białaczki, oponiaki oraz nowotwory przysadki i jelita grubego.

W pracy z *Molecular Carcinogenesis* z 2011 r. (IF=3,563; MNiSW=35) Habilitant z zespołem poszukiwał markerów epigenetycznych nowotworu jelita grubego. W tym celu zaprojektował kolumnę wiążącą zmetylowane DNA, wyizolował je z komórek tego nowotworu oraz komórek prawidłowych pochodzących od 10 osób, a następnie analizował za pomocą macierzy oligonukleotydowych, by wytypować geny, których rejony 5' były w nowotworze silnie zmetylowane. Kolejne badania potwierdziły dla części z nich niższą ekspresję oraz częstsze występowanie w tkance guza. Metylacja promotora genu *GPR101* kodującego receptor związany z białkami G korelowała z czasem do wznowy u chorych na raka jelita grubego w stopniu IV.

Do badań nad tym nowotworem Kandydat wrócił podczas realizacji grantu MNiSW Iuventus Plus, którym kierował. Wraz z zespołem stwierdził, że w komórkach raka jelita grubego pochodzących od chorych dochodzi do nadmiernej metylacji rejonów regulatorowych genu *MUPCDH* kodującego μ -protokadherynę (spadek jej ilości obserwuje się w 70% nowotworów jelita grubego) i genu *PTPRH* kodującego przezbłonową fosfatazę tyrozynową regulującą aktywność m.in. EGFR. To korelowało z ich niższą ekspresją w porównaniu do tkanek zdrowych i nasilało się w miarę postępu choroby. Na hodowlach *in vitro* udowodnił, że za spadek ekspresji tych genów odpowiada ich nadmierna metylacja oraz charakterystyczny dla nieaktywnej chromatyny wzór metylacji histonów. Wyniki te zostały opublikowane w *Gastroenterology Research and Practice* w 2015 r. (IF=1,742; MNiSW=15) oraz w *International Journal of Oncology* w 2017 r. (IF=3.333; MNiSW=25).

Rezultaty analizy globalnego poziomu metylacji DNA oraz metylacji sekwencji powtarzających się u osób dorosłych chorych na ostrą białaczkę szpikową (OBS) oraz dzieci chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (OBL) zostały pokazane w pracy w *International Journal of Hematology* z 2014 r. (IF=1,918; MNiSW=15). Wskazują, że w tych hematologicznych nowotworach, przeciwnie niż w przypadku guzów litych, metylacja DNA (szacowana w jednojądrzastych komórkach szpiku lub krwi obwodowej) jest wyższa niż u osób zdrowych oraz że stopień metylacji DNA jest wyższy u osób z OBL niż z OBS. Dodatkowo, praca ta pokazuje, że poziom 5mC u pacjentów z OBS może mieć wartość rokowniczą.

W kolejnych badaniach Habilitant porównywał poziom metylacji w rejonach regulatorowych konkretnych genów, których produkty regulują proces hemopoezy. Zmiany w poziomie metylacji promotorów genów kodujących czynniki transkrypcyjne z rodziny CEBP i HOX w OBS zostały opisane w pracach w *Leukemia Research* z 2014 r. (IF=2,351; MNiSW=25) i w *Molecular Medicine Reports* z 2015 r. (IF=1,559; MNiSW=20). Habilitant obserwował podwyższony poziom metylacji w *HOXA4* -5 oraz *CEBPA* i *CEBPD* u chorych na OBS w porównaniu z osobami zdrowymi. Ponownie, uzyskane dane mogą mieć znaczenie rokownicze, np. niższa metylacja promotora *HOXA4* cechowała pacjentów z lepszym rokowaniem, a profil metylacji genów *CEBP* różnił się u pacjentów z różnym rokowaniem. W pracy w *Blood Research* z 2015 r. Habilitant obserwował zróżnicowany stopień metylacji promotorów genów kodujących czynniki transkrypcyjne z rodziny HOX, zarówno u dzieci chorych na OBL jak i osób zdrowych. Wykazał też, że tylko u osób chorych dochodziło do metylacji promotorów genów kodujących takie czynniki transkrypcyjne jak *TAL1*, *IRF8*, *IRF4*, co korelowało z ich niższą ekspresją. Dodatkowo metylacja promotora *TAL1* była częstsza u dzieci z gorszym rokowaniem.

Porównanie wzoru metylacji DNA komórek pochodzących z oponiaków i prawidłowych opon mózgowych było tematem pracy, która powstała podczas realizacji grantu SONATA, kierowanego przez pana dr Bujko. Pokazał w niej, że nowotworom tym towarzyszy wzrost metylacji jednego z 3 promotorów genu *DLC1* (wariantu 1) kodującego supresor onkogenezy, inhibitor GTPaz z rodziny Rho. Wariant ten jest specyficzny dla opon mózgowych, a metylacja promotora wiąże się z obniżeniem jego ekspresji. Z kolei obniżenie ilości tego białka przyczynia się do wzrostu żywotności i potencjału migracyjnego komórek oponiaka, co Habilitant udowodnił w serii eleganckich doświadczeń na hodowlach komórkowych (praca w *Journal of Neurooncology* z 2016 r.; IF=2,98; MNiSW=30).

W publikacji w *Molecular and Cellular Endocrinology* z 2018 r. (IF=3,563; MNiSW=35) Habilitant porównał metylację DNA w utkaniu nowotworowym nieczynnych funkcjonalnie gruczolaków przysadki z prawidłową tkanką przysadki przy wykorzystaniu macierzy

oligonukleotydowych zaprojektowanych do analizy metylacji 450 tys. wybranych sekwencji CpG. Wykazał, że w gruczolakach poziom metylacji CpG jest wyższy niż w tkance zdrowej. Wytypował geny, których ekspresja może być zmieniona w związku z tą modyfikacją oraz wykazał wyższą metylację w obrębie promotorów genów, w większości supresorów onkogenezy, tj. *SFN*, *STAT5*, *DUSP1*, *PTPRE* i *FGFR2*, co wiązało się z ich niższą ich ekspresją.

Prace eksperymentalne składające się na osiągnięcie naukowe są na wysokim poziomie, zarówno koncepcyjnym jak i metodologicznym oraz prezentują wyniki, które są ważne naukowo oraz mogą mieć zastosowanie praktyczne. Osiągnięcie to spełnia wymagania stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego określone w Ustawie z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Opinia o pozostałym dorobku naukowym

Pozostały dorobek publikacyjny pana dr Bujko to 20 prac, przy czym jedna z nich powstała przed obroną doktoratu. Większość dotyczy roli modyfikacji epigenetycznych (DNA lub histonów) w rozwoju nowotworów różnego typu, ale Habilitant podejmował się też analizy sekwencji lub ekspresji określonych genów, których produkty związane są z nowotworzeniem. Wyniki tych prac opublikowane są w przeważającej części dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym o IF średnio 1,5-3. Pan dr Bujko w 9 z tych prac jest pierwszym autorem.

Parametry bibliometryczne całego dorobku publikacyjnego Habilitanta, to łączny IF=48,455; liczba cytowań (bez autocytowań) - ponad 180; Indeks Hirscha=9, według bazy Web of Science w momencie przygotowania tej dokumentacji. Parametry te świadczą o wysokim poziomie działalności naukowej.

Część tych publikacji powstała w ramach współpracy z zespołami m.in. pana prof. Jerzego Ostrowskiego z Zakładu Genetyki i pani prof. Jolanty Kupryjańczyk z Zakładu Patologii Molekularnej z Centrum Onkologii - Instytutu w Warszawie. Dorobek publikacyjny pana dr Bujko jest efektem realizacji grantów, w których Habilitant pełnił funkcję wykonawcy (projekty z MNiSW w latach 2008-2011 oraz 2010-2013; z MNiSW w ramach współpracy z Institut Universitaire d'Hematologie, INSERM U662, Hopital Saint-Louis w Paryżu w latach 2008-2012 oraz z Naukowej Fundacji Polfarmy w latach 2015-2017) lub kierownika (projekt Iuventus Plus z MNiSW w latach 2012-2014 oraz granty NCN – Sonata w latach 2011-2014 i obecnie Opus).

Habilitant jest postrzegany jako specjalista w zakresie zmian epigenetycznych towarzyszących nowotworom, o czym świadczy fakt, że był zaproszony do wygłoszenia referatów na ten temat na 7 zjazdach krajowych (w tym - 3 przed obroną doktoratu) oraz na 1 konferencji

międzynarodowej. Jego doniesienie zjazdowe w formie plakatu zostało nagrodzone (2-ie miejsce) przez komisję konkursową konferencji EMBO Young Scientists' Forum w 2015 r. Otrzymał również nagrodę dyrektora Centrum Onkologii za najlepszy doktorat obroniony w 2010 r.

Podsumowując, uważam, że działalność naukowa pana dr Bujko świadczy o Jego samodzielności. Prowadzi ciekawe, ważne z naukowego i praktycznego punktu widzenia badania. Potrafi skutecznie aplikować o finansowanie projektów, a wyniki ich realizacji systematycznie publikuje w dobrych i bardzo dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Jego warsztat metodyczny stopniowo się poszerza. Również warto podkreślić Jego umiejętność współpracy z innymi badaczami, choć trochę szkoda, że ostatnio nie ma wśród nich badaczy z ośrodków zagranicznych.

Opinia o dorobku dydaktycznym, popularyzatorskim i współpracy międzynarodowej

Działalność dydaktyczna pana dr Bujko z racji miejsca pracy ogranicza się do opieki nad dyplomantami z innych uczelni. Ma On w swoim dorobku opiekę nad studentami z SGGW (1 osoba z kierunku Biotechnologia), Politechniki Warszawskiej (2 osoby z kierunku Biotechnologia) oraz Uniwersytetu Warszawskiego (1 osoba z kierunku Bioinformatyka i biologia) wykonującymi prace inżynierskie lub magisterskie pod Jego kierunkiem. Pełni funkcję promotora pomocniczego w dwóch przewodach doktorskich.

Habilitant angażuje się w popularyzację nauki. Prowadził warsztaty („Problemy biologii molekularnej nowotworów” w 2010 r.) oraz wykład („Patologia molekularna w onkologii” w 2018 r.) dla młodzieży licealnej, a także wykłady na konferencji szkoleniowej pt. „Terapie celowane w onkologii” w 2009 r. Konsultował tłumaczenie filmów popularno-naukowych emitowanych przez Canal+. Współpracował też z wydawnictwem Medipage w tłumaczeniu artykułów naukowych lub słownika medycznego oraz z firmą Proper Medical Writing.

Pan dr Bujko brał udział w licznych konferencjach naukowych: 8 przed - i 29 po uzyskaniu stopnia doktora. Nie odbył długoterminowego stażu podoktorskiego, ale ma na swoim koncie dwumiesięczny staż naukowy w Universitaire d'Hematologie, INSERM U662, Hopital Saint-Louis w Paryżu w 2008 r. w ramach projektu naukowego kierowanego przez pana prof. Siedleckiego i prowadzonego we współpracy z tą jednostką.

Habilitant jest rozpoznawany w międzynarodowym środowisku naukowym, o czym świadczy fakt, że jest zapraszany do recenzowania prac (w sumie 18 recenzji), m.in. w *Medical Oncology* (IF=2,147), *Metabolic Brain Disease* (IF=2,411), *International Journal of Molecular*

Sciences (IF=2,862), *BMC Cancer* (IF=3,265), *Oncology Reports* (IF=3,041), *Oncotarget* (IF=5,008), *Aging and Disease* (IF=5,058), *Clinical Epigenetics* (IF=5,496).

Wniosek końcowy

W mojej opinii osiągnięcie naukowe pana dr Mateusza Bujko stanowi znaczny wkład w zrozumienie znaczenia zmian epigenetycznych w procesie nowotworzenia, co wpisuje się w zakres biologii medycznej w ramach dziedziny nauk medycznych. Uważam też, że zarówno Jego aktywność naukowa jak i aktywność na innych polach spełniają wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. (z późniejszymi zmianami) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. W związku z tym pozytywnie opiniuję wniosek o nadanie stopnia doktora habilitowanego panu dr Mateuszowi Bujko i wnoszę o wszczęcie dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Anne Hermen-Antoniewicz