

**Ocena osiągnięcia naukowego pt. „Identyfikacja genów
powiązanych z patogenezą klasycznego chłoniaka Hodgkina” oraz
dorobku naukowego dr n. med. Macieja Giefinga adiunkta
w Instytucie Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w
Poznaniu**

**I. OCENA SYLWETKI NAUKOWEJ HABILITANTA ORAZ JEGO DOROBKU
NAUKOWEGO:**

1) Życiorys naukowy

Dr n. med. Maciej Giefing uzyskał tytuł magistra biotechnologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. Od roku 2004 jest zatrudniony w Instytucie Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu, początkowo na stanowisku biologa asystenta, a od 2008r., po uzyskaniu tytułu doktora nauk medycznych, na stanowisku adiunkta. Zainteresowania naukowe dr Giefinga, koncentrują się wokół zaburzeń genetycznych w raku krtani i klasycznej postaci chłoniaka Hodgkina, przy czym należy podkreślić są one konsekwentnie rozwijane od początku jego pracy zawodowej. Zagadnienia te stanowiły przedmiot rozprawy doktorskiej pt. „Molekularna charakterystyka uszkodzeń chromosomów w liniach komórkowych chłoniaka Hodgkina oraz płaskonabłonkowego raka krtani”, Zagadnienia genetyczne dotyczące tych chorób są również tematem prawie wszystkich prac oryginalnych, opublikowanych zarówno przez jak i po uzyskaniu tytułu doktora nauk medycznych. Tej tematyce poświęcony jest również cykl prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. W trakcie pracy zawodowej, Habilitant przebywał trzykrotnie na stażach w Instytucie Genetyki Człowieka w Klinice

Uniwersyteckiej Uniwersytetu Chrystiana Albrechta w Kilonii, w roku 2005 i 2007 na stanowisku doktoranta (stypendium fundacji *Federation of European Biochemical Societies*, FEBS), a w latach 2009 – 2012, na stanowisku „post-doc” (początkowo w ramach stypendium fundacji FEBS, następnie programu MNiSW „Wsparcie Międzynarodowej Mobilności Naukowców”). Pobyty te wywarły istotny wpływ na rozwój naukowy Habilitanta i nie ulega wątpliwości, że potrafił on doskonale wykorzystać zdobyte w ich trakcie umiejętności i doświadczenie. W trakcie dwóch pierwszych pobytów przeprowadzone zostały badania wchodzące w skład pracy doktorskiej, a kontynuacja współpracy z naukowcami z Uniwersytetu Christiana Albrechta w Kilonii zaowocowała licznymi publikacjami w prestiżowych czasopismach z dziedziny genetyki, biologii molekularnej i hematologii. Dodatkowym potwierdzeniem wysokich kwalifikacji dr Giefinga było powierzenie mu funkcji recenzenta w tak renomowanych czasopismach naukowych jak: *Blood*, *Leukemia* czy *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. Od roku 2007, dr Giefing był lub jest kierownikiem sześciu własnych projektów badawczych dotyczących genetyki raka krtani i chłoniaka Hodgkina, co świadczy o jego dużym doświadczeniu w projektowaniu i realizacji projektów naukowych oraz w kierowaniu zespołami badawczymi. Był również współwykonawcą w pięciu kolejnych projektach badawczych. Osiągnięcia dydaktyczne Habilitanta obejmują opiekę nad magistrantami, promotorstwo pracy magisterskiej, opiekę nad doktorantami w Instytucie Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu oraz pełnienie funkcji promotora pomocniczego rozpraw doktorskich w Instytucie Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu oraz w Uniwersytecie Christiana Albrechta w Kilonii. Za działalność popularyzatorską i naukową dr Maciej Giefing otrzymał liczne nagrody i wyróżnienia, m. in. jako współautor, nagrodę za Najlepszy Podręcznik i Skrypt Akademicki przyznaną za w roku 2008 przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

2. Ocena dorobku naukowego

Dr n. med. Maciej Giefing jest autorem i współautorem 34 publikacji, spośród których 21 stanowią prace oryginalne. Wszystkie prace oryginalne zostały opublikowane w języku angielskim, w czasopismach posiadających IF. O ich niepodważalnej wartości naukowej świadczy fakt publikacji w prestiżowych czasopismach, takich jak m.in. *Nature Medicine*, *Journal of Experimental Medicine*, *Blood*, *Leukemia*, *Haematologica*, *British Journal of Haematology*, co przekłada się na bardzo wysoki

łączny czynnik wpływu (*impact factor*, IF) wynoszący 118,772. Liczba cytowań według bazy Web of Science wynosi 352, a indeks Hirscha 10.

Zwraca uwagę spójny charakter dorobku naukowego dr Gefinga, prawie wszystkie prace oryginalne, zarówno przed jak i po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych dotyczą genetyki raka krtani i klasycznej postaci chłoniaka Hodgkina (cHL). Przedmiotem kilku prac są również badania na temat genetycznego podłoża chłoniaków B-komórkowych. Badania dotyczące raka krtani prowadzone były w Instytucie Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu, natomiast znaczną część badań dotyczących chłoniaków przeprowadzono w Instytucie Genetyki Uniwersytetu Christiana Albrechta, który należy wiodących ośrodków na świecie zajmujących się biologią tych nowotworów. Badania wykonane były na liniach komórkowych, oraz na materiale tkankowym uzyskanym od chorych przy pomocy nowoczesnych technik biologii molekularnej, jak mikromacierze typu array-CGH czy SNP.

Badania dotyczące raka krtani przyniosły liczne, ważne obserwacje dotyczące w patogenezy tego nowotworu, sugerujące m. in. znaczenie nowych potencjalnych genów supresji nowotworów (*STK17A*, *PTPRD* i *PCDH17/PCH68*) oraz potencjalnych onkogenów (*CTTN*, *ORAOV1* i *FADD CRKL*), jak również zaburzeń metylacji DNA w genach związanych z niedokrwistością Fanconiego.

Istotnych informacji dostarczyły również wyniki badań nad podłożem genetycznym nowotworów układu chłonnego, które wykazały delecje genów *TNFSF7* i *TNFSF9* w liniach komórkowych chłoniaka rozlanego z dużych komórek B, chłoniaka Burkitta i cHL, co wskazuje że geny te mogą pełnić funkcję genów supresji nowotworów w chłoniakach u ludzi. Wykazano również że gen *TNFAIP3* (*A20*), kluczowy regulator aktywności NF- κ B pełni funkcję genu supresji nowotworów w pierwotnym chłoniaku B-komórkowym śródpiersia oraz w cHL, przy czym ważną obserwacją było wykazanie istotnie większej częstości mutacji *TNFAIP3* w komórkach cHL z obecnością EBV. Po raz pierwszy wykryto zatem zmianę genetyczną, która różnicuje postacie cHL EBV+ i EBV-. Dane te wskazują na uzupełniające znaczenie mutacji *TNFAIP3* i zakażenia EBV w patogenezie HL. W innych publikacjach opisano kolejne potencjalne geny supresji nowotworów, takie jak: *SEPT9*, *GNG7* i *CYBB*. Niewątpliwie, do najważniejszych badań, w których uczestniczył dr Gefinga należy zaliczyć pionierskie badania, które wykazały znaczenie derepresji długich terminalnych powtórzeń (LTR) w patogenezie chłoniaków poprzez aktywację protoonkogenu *CSF1R*.

Podsumowując część recenzji dotyczącą dorobku naukowego habilitanta stwierdzam, że jest on doświadczonym naukowcem, o dużym dorobku naukowym. Jest autorem i współautorem wielu wartościowych publikacji, w liczących się czasopismach zagranicznych, w istotny sposób przyczyniających się do postępu wiedzy na temat genetyki raka krtani i chłoniaków. Należy podkreślić wysoki poziom metodyczny ocenianych prac i że badania wykonane zostały z zastosowaniem najnowszych technik z zakresu genetyki i biologii molekularnej. Profil aktywności naukowej Habilitanta świadczy o jasno skryształizowanych i konsekwentnie realizowanych zainteresowaniach.

II. OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Osiągnięcie naukowe przedstawione do recenzji stanowi cykl 5 prac pod zbiorczym tytułem „**Identyfikacja genów powiązanych z patogenezą klasycznego chłoniaka Hodgkina**”. Badania, których wyniki przedstawiono w pracach były realizowane w Instytucie Genetyki Człowieka PAN oraz w Instytucie Genetyki Człowieka Uniwersytetu Christiana Albrechta w Kilonii, gdzie dr Gielfing miał okazję współpracować z wybitnymi, specjalistami zajmującymi się genetyką cHL w ramach grupy badawczej *German Hodgkin Study Group*, która jest jedną z najbardziej cenionych w tej dziedzinie grup badawczych na świecie. Wymienione prace zostały opublikowane w *Genes*, *Chromosomes & Cancer*, *British Journal of Haematology*, *Haematologica*, *Methods in Molecular Biology* i *Plos One*, ich łączny IF wynosi 19,194.

Zagadnienia stanowiące przedmiot badań są niezwykle istotne, bowiem zjawiska odpowiedzialne za transformację nowotworową w chłoniaku Hodgkina pozostają w większości nieokreślone. Poznanie genetycznych mechanizmów onkogenezy, w tym zaburzeń szlaków sygnałowych o kluczowym znaczeniu dla transformacji nowotworowej, rozwoju i progresji nowotworu może przyczynić się do opracowania nowych bardziej skutecznych metod terapii celowanych.

W badaniach opisanych w publikacjach dokonano analizy genomu linii komórkowych klasycznego chłoniaka Hodgkina przy użyciu wysokorozdzielczych mikromacierzy array-CGH, SNP oraz mikromacierzy do badania globalnej ekspresji genów w analizowanym genomie. Dodatkowo wykorzystano nowatorską mikromacierz w celu oceny poziomu metylacji regionów promotorowych genów o możliwym znaczeniu w

patogenezie cHL. Na duże uznanie zasługuje warsztat badawczy, stojący jest na wysokim, światowym poziomie oraz doświadczenie Habilitanta w stosowaniu różnych technik genetycznych i biologii molekularnej.

W pracach oryginalnych wchodzących w skład omawianego cyklu poruszane są zagadnienia kluczowe dla wyjaśnienia patogenyzy klasycznej postaci chłoniaka Hodgkina. Autorzy podejmują próbę określenia mechanizmów, które pozwalają komórkom nowotworowym - Hodgkin-Reed-Sternberga (HRS) uniknąć śmierci w wyniku apoptozy, umożliwiając tym samym ich przeżycie i dalszą proliferację. Uważa się, że zjawiska te należą do najważniejszych wydarzeń w onkogenezie chłoniaka Hodgkina

Dwie prace, opublikowane w 2010r, pt. *"Rare occurrence of biallelic CYLD gene mutations in classical Hodgkin lymphoma"* oraz w roku 2012, pt. *"Genetic lesions of the TRAF3 and MAP3K14 genes in classical Hodgkin lymphoma"* dotyczą poszukiwania mechanizmów prowadzących do hiperaktywacji szlaku sygnałowego NFκB w cHL. Aktywacja czynnika transkrypcji NFκB, należy do najważniejszych mechanizmów odpowiedzialnych za zahamowanie apoptozy w komórkach HRS. Wiadomo, że może być ona wywołana m. in. przez otaczające limfocyty T, wirusa Epsteina-Barr oraz inaktywację inhibitorów NFκB, ale również przez inne czynniki, które nie zostały jak dotąd określone. Badania przedstawione w publikacjach, wykazały, że do hiperaktywacji szlaku sygnałowego NFκB w komórkach cHL mogą przyczyniać się zaburzenia w obrębie trzech powiązanych z nim genów: delecje genów *CYLD* i *TRAF3* oraz przyrost materiału genetycznego w obrębie genu *MAP3K14*.

Pomimo, że komórki Hodgkin-Reed-Sternberga wywodzą się z limfocytów B, cechują się całkowitą utratą ekspresji genów typowych dla limfocytów B, czego konsekwencją jest brak wytwarzania immunoglobulin i brak czynnościowego receptora antygenowego limfocyty B. Może to stanowić mechanizm ucieczki komórek nowotworowych, który pozwala im uniknąć śmierci w wyniku apoptozy. Jedna z hipotez mówi, że brak zdolności transkrypcji genów dla immunoglobulin w komórkach Hodgkin-Reed-Sternberga wynika z braku kluczowych regulatorów transkrypcji genów limfocytów B, takich jak: Oct-2, BOB.1 i PU.1. i/lub zaburzeń ekspresji supresorów genów limfocytów B. Inna możliwość to wyciszenie epigenetyczne transkrypcji genów dla immunoglobulin przez promotora hipermetylacji. W kolejnej pracy z omawianego cyklu, pt. *"ETS1 encoding a transcription factor involved in B-*

cell differentiation is recurrently deleted and downregulated in classical Hodgkin lymphoma” przeprowadzono analizę bioinformatyczną 209 genów hipermetylowanych wyłącznie w klasycznym chłoniaku Hodgkina i określono czynniki transkrypcyjne wpływające na prawidłowy rozwój limfocytów B, m. in. EBF1, E12 oraz ETS1. Wykazano utratę ekspresji ETS1 w cHL oraz określono częste delecje hetero- i homozygotyczne odpowiedzialne za utratę tej ekspresji. Są to pierwsze opisane w literaturze światowej obserwacje wskazujące na brak ekspresji ETS1 jako przyczynę utraty przez komórki HRS cech fenotypowych i czynnościowych typowych dla limfocytów B. Interesujące dane dotyczące zupełnie nowych zagadnień w patogenezie cHL przyniosły wyniki przedstawione w publikacji pt. *“Hodgkin-Reed-Sternberg cells in classical Hodgkin lymphoma show alterations of genes encoding the NADPH oxidase complex and impaired reactive oxygen species synthesis capacity”*. Autorzy wykazali uszkodzenia genów kodujących kompleks oksydazy NADPH w komórkach klasycznego HL, które powodują uszkodzenia enzymu, czego konsekwencją jest brak w komórkach HRS anionorodnika nadadtlenkowego. Może to skutkować zaburzeniami apoptozy, może również stanowić nowy, nieznany dotąd mechanizm prowadzący utratę cech limfocytów B przez komórki HRS. Wszystkie prace oryginalne wchodzące w skład cyklu oceniam bardzo wysoko, zarówno ze względu na istotną wartość poznawczą jak i doskonały warsztat badawczy. Cykl obejmuje również pracę metodologiczną, dotyczącą zastosowania technik opartych na hybrydyzacji *in situ* w diagnostyce chłoniaków. Praca ma dużą wartość praktyczną dla osób zajmujących się diagnostyką HL, wskazuje na ogromną wiedzę i doświadczenie Habilitanta w stosowaniu nowoczesnych metod genetyki i biologii molekularnej.

Podsumowując, moja ocena osiągnięcia naukowego dr n. med. Macieja Giefinga jest bardzo wysoka, przedstawione publikacje mają dużą wartość poznawczą, wiele badań ma charakter pionierski, na szczególne uznanie zasługuje warsztat badawczy.

III. WNIOSEK KOŃCOWY

Na podstawie oceny dorobku naukowego, naukowego, stwierdzam, że dr n. med. Maciej Giefing posiada pełne kwalifikacje do prowadzenia samodzielnej pracy naukowo-badawczej i spełnia wszystkie warunki stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora habilitowanego. Bogaty dorobek naukowy dr Giefinga w postaci publikacji w międzynarodowym piśmiennictwie o wysokim współczynniku

oddziaływania ma zwarty i spójny charakter, wskazuje na wysokie walory intelektualne, dojrzałość naukową i wynikającą z niej umiejętność samodzielnego projektowania badań naukowych oraz ich realizacji w ramach współpracy w zespole. Stwierdzam, że osiągnięcie naukowe dr med. Macieja Giefinga ma charakter nowatorski i wnosi istotne wartości do światowej nauki. Cały dorobek naukowy, dydaktyczny oraz osiągnięcie naukowe oceniam bardzo wysoko i z pełnym przekonaniem wnoszę o dopuszczenie dr n. med. Macieja Giefinga do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Marian K.
Prof. dr hab. n. med. Iwona Hus
Specjalista chorób wewnętrznych
Hematolog
74/1130