

Warszawa 27.12.2019

**Ocena dorobku naukowego, działalności dydaktycznej i organizacyjnej oraz
rozprawy habilitacyjnej pt.**

**„Znaczenie kinazy retikulum endoplazmatycznego PERK w patogenezie i terapii
chorób nowotworowych”**

dr Dariusza Pytla

Przebieg pracy zawodowej

Dr Dariusz Pytel ukończył studia na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego w roku 2005 otrzymując stopień magistra ze specjalizacją genetyka. Swoją pracę magisterską zatytułowaną „Rola BRC/ABL w oporności komórek białaczkowych na leki i promieniowanie ” wykonywał na Uniwersytecie Łódzkim pod opieką prof. Ireneusza Majsterka. W 2008 roku dr Pytel otrzymał stopień doktora (PhD) na Uniwersytecie Łódzkim za rozprawę doktorską pt. „Oddziaływanie kinazy tyrozynowej BCR/ABL z glikozylazą uracylową DNA” pod promotorstwem prof. Janusza Błasiaka. W latach 2005-2008 odbył staż na Wydziale Mikrobiologii i Immunologii W Szkole Medycznej Uniwersytetu w Temple w Filadelfii, USA. W latach 2008-2013 odbył również staż na Uniwersytecie Pensylwania w Filadelfii w USA. W tym czasie Habilitant odbył dodatkowo ponad roczny (09/2009-12/2010) staż w Szpitalu Brigham and Women's Szkoła Medycznej Harvard. Po zakończeniu stażu od 12/2013 do 06/2014 Habilitant pracował na stanowisku młodszego profesora na Wydziale Biologii Nowotworów Uniwersytecie Pensylwania w Filadelfii, USA. Od 2014 roku do chwili obecnej pracuje naukowo na stanowisku młodszego profesora na Uniwersytecie Medycznym Południowej Karoliny w Charleston, USA.

Dorobek naukowy

Dorobek naukowy dr Dariusza Pytla składa się z 38 prac. Pięć prac stanowi osiągnięcie naukowe Habilitanta. Cztery prace oryginalne o łącznym współczynniku cytowań $IF=29,175$ i jedna pogładowa o $IF=7,519$, pozostałe 33 prace to głównie artykuły oryginalne (22) i 11 prac poglądowych o łącznym $IF=98,435$. Indeks Hirscha Habilitanta wynosi 13, a liczba cytowań bez autocytowań według bazy Web of Science 478.

Omówienie osiągnięcia naukowego

Na osiągnięcie naukowe dr Dariusza Pytla składają się 4 artykuły oryginalne i jeden pogladowy. W dwóch z nich jest pierwszym autorem, w jednej pierwszym współautorem oraz w jednej drugim autorem, natomiast w pracy poglądowej jest wiodącym autorem.

Głównym tematem osiągnięcia naukowego Habilitanta jest poznanie funkcji kinazy retikulum endoplazmatycznego PERK w rozwoju i proliferacji nowotworów oraz jej wpływu na regulację metabolizmu lipidów. Dodatkowo, Habilitant bada związki niskocząsteczkowe wybiórczo hamujące kinazę PERK i ich wpływ na proliferację komórek nowotworowych, głównie komórek czerniaka. Kolejnym zagadnieniem podjętym przez Habilitanta jest funkcja PERK w powstawaniu błędnie sfałdowanych białek w retikulum endoplazmatycznym (RE). Kinaza PERK jest regulatorem wielu ważnych procesów, jest m.in. jednym z sensorów stresu RE przez co wpływa na poziom białek opiekuńczych, czynników transkrypcyjnych oraz ważnych dla progresji cyklu komórkowego cyklin (cyklina D1), przez co wpływa na cykl komórkowy. Najważniejszym odkryciem Habilitanta jest wykazanie, że PERK jest kinazą lipidową i fosforyluje diacyloglicerol (DAG), przyczyniając się do powstawania kwasu fosfatydowego, który z kolei bezpośrednio reguluje szlak kinazy mTOR. Dodatkowo, Habilitant wykazał, że aktywność kinazy PERK jest regulowana przez PI3K oraz, że PERK reguluje kinazy AKT i mTOR oraz wpływa na proces różnicowania się adipocytów. W związku z tym, że PERK reguluje tak ważne dla komórki szlaki, które są rozregulowane w większości nowotworów (nadaktywacja szlaku AKT/mTOR), kinaza ta jest doskonałym celem terapeutycznym w nowych terapiach przeciwnowotworowych.

W swojej kolejnej pracy Habilitant wykazał również, że inaktywacja PERK uwrażliwia komórki na różne rodzaje stresu RE przez co hamuje progresję i redukuje przeżywalność komórek nowotworowych. W warunkach stresu i globalnej represji translacji poprzez tzw. „małe, otwarte ramki odczytu” PERK aktywuje ekspresję czynnika transkrypcyjnego ATF4, który ma za zadanie ochronić komórkę. ATF4 indukuje ekspresję pro-apoptotycznego czynnika CHOP, jednak aby czasowo opóźnić proces apoptozy PERK promuje ekspresję microRNA MiR-211, który z kolei jest represorem CHOP. Badania te są niezwykle ciekawe, gdyż pokazują, że w komórce poddanej stresowi RE istnieje mechanizm spowalniający proces apoptozy, co daje komórce czas na powrót do homeostazy zanim uruchomione zostaną mechanizmy prowadzące do apoptozy.

PERK pełni funkcje zarówno jako supresor procesu nowotworzenia oraz jako czynnik promujący ten proces, w zależności od ilości i aktywności PERK. Habilitant wykazał szereg mutacji w genie PERK występujących w różnych liniach nowotworowych. Co ciekawego, w modelu mysim z indukowaną mutacją BRAFV600E w zdrowych melanocytach do powstania agresywnej formy czerniaka doszło wówczas, gdy nastąpiło częściowe wyłączenie PERK (haploinsufficient – czyli brak dawki). Z kolei całkowite zablokowanie PERK poprzez inhibitor niskocząsteczkowy powodowała zwiększoną apoptozę i zahamowanie proliferacji w rozwiniętym czerniaku., co ciekawego, długotrwałe podawanie tego inhibitora nie powodowało powstawania spontanicznego czerniaka u myszy z mutacją BRAFV600E. Wyniki te są niezwykle obiecujące, w kontekście nowych form terapii czerniaka z mutacją BRAFV600E. Modulowanie aktywnością PERK może w przyszłości stanowić nowatorskie podejście terapeutyczne.

Z uwagi na fakt, że kinaza PERK jest białkiem powszechnie występującym w różnych typach komórek i bierze udział w wielu procesach komórkowych m.in. jest jednym z głównych sensorów stresu RE co wpływa na błędne fałdowanie białek, zaburzenia w jej aktywności mogą występować w wielu jednostkach chorobowych np. chorobie Alzheimera. W związku z tym istnieje potrzeba poszukiwania nowych wybiórczych inhibitorów PERK. W swojej kolejnej pracy Habilitant opracował wysokowydajny test przesiewowy do poszukiwania inhibitorów PERK, w wyniku czego znalazł i opisał dwa nowe inhibitory PERK, które niewątpliwie znajdą zastosowanie we współczesnej medycynie.

Swoje odkrycia i obserwacje dotyczące funkcji PERK wraz z przeglądem piśmiennictwa innych autorów Habilitant zebrał w pracy poglądowej, której jest wiodącym autorem.

Podsumowanie

Autoreferat jest napisany poprawnie z drobnymi lapsusami językowymi wynikającymi z prawdopodobnie z bezpośredniego tłumaczenia z języka angielskiego. Jednakże te niedociągnięcia w niczym nie umniejszają dorobku naukowego Habilitanta, który jest znaczący i wykracza ponad przeciętną. Na szczególną uwagę zasługuje podejście metodyczne Habilitanta, warsztat i wnikliwa analiza problemów co prowadzi do nowatorskich wniosków, które w przyszłości mogą zostać wykorzystane w klinice.

Pozostałe osiągnięcia naukowe

Pozostała działalność naukowa Habilitanta po uzyskaniu stopnia doktora w dalszym ciągu koncentruje się na badaniu zagadnienia stresu RE, błędnego fałdowania białek oraz funkcji kinazy PERK w komórce. W swoich pracach Habilitant wykazał, że utrata kinazy PERK w mysim modelu raka sutka powoduje zahamowanie proliferacji komórek guza wynikających z nadmiernego oksydacyjnego uszkodzenia DNA. Dodatkowo, swoją wiedzę na temat PERK, błędnego fałdowania białek oraz stresu RE wykorzystał w przygotowaniu wielu publikacji, w których był współautorem. Na podkreślenie zasługuje fakt, że prace te były wykonywane we współpracy z naukowcami z Uniwersytetu Łódzkiego, a głównie z prof. Ireneuszem Majsterkiem, który był promotorem pracy magisterskiej Habilitanta. Habilitant wraz z współpracownikami wykazał, że kinaza PERK, stres RE oraz nieprawidłowe fałdowanie białek występuje również w innych chorobach takich jak choroba Alzheimera, cukrzyca typu 2 oraz innych niż czerniak rodzajach nowotworów.

Ponadto, w swojej pracy naukowej Habilitant zajmował się zagadnieniem funkcji kinazy lipidowej DGK ζ , wykazał, że kinaza ta selektywnie hamuje rozwój limfocytów Treg. W modelu czerniaka z mutacją BRAFV600E wykazał, że białko FBXO4 ma funkcje supresorowe. Habilitant również zidentyfikował oprócz MiR-211 inne ważne microRNA, które są indukowane w trakcie stresu RE. Habilitant jest także współautorem wielu publikacji dotyczących badań nad szlakami naprawy DNA, polimorfizmów w genach, które są zasocjowane z występowaniem chorób oraz badaniem różnych związków przeciwbakteryjnych, przeciwzapalnych i przeciwnowotworowych.

Podsumowując tę część chciałabym podkreślić dużą aktywność naukową Habilitanta, jego niezwykle bogaty warsztat naukowy oraz różnorodność projektów, co pozwala na wielopłaszczyznowe postrzeganie problemów naukowych. Dodatkowo, pragnę podkreślić, że Habilitant uczestniczył w projektach badawczych w wielu znanych laboratoriach w USA, co zdecydowanie poszerzyło jego horyzonty i wzbogaciło sposób myślenia naukowego.

Działalności dydaktyczna i organizacyjna

Habilitant prowadzi współpracę naukową z wieloma ośrodkami zarówno w kraju jak i zagranicą. Uczestniczył w wielu projektach naukowych, przy czym nie zaznaczył w którym z nich był głównym badaczem a którymi kierował. Ponadto wygłosił 8 referatów naukowych na międzynarodowych konferencjach oraz aktywnie uczestniczył w 17 zjazdach naukowych. Dodatkowo, Habilitant zdobył doświadczenie w pracy ze studentami/doktorantami poprzez sprawowanie opieki nad jednym studentem wykonującym prace magisterską, oraz dwoma stypendystami Fundacji Fulbright. W tym kontekście działalność dydaktyczną i organizacyjną Habilitanta należy uznać za dostateczną. Pragnę jednak podkreślić, że dr Dariusz Pytel jest członkiem panelu recenzentów w 4 czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym.

Wniosek końcowy

Habilitant legitymuje się dobrze udokumentowanym dorobkiem naukowym, ponadto dysponuje szerokim i wartościowym warsztatem badawczym. Zakres i rodzaj stosowanych metod, zdolność interpretacji wyników oraz praca w międzynarodowych projektach badawczych świadczą o jego ciągłym rozwoju naukowym. Prace stanowiące dorobek naukowy Habilitanta są opublikowane w większości w międzynarodowych czasopismach o bardzo dobrym współczynniku oddziaływania IF. Ponadto, Habilitant zdobył doświadczenie naukowe w dobrych jednostkach naukowych na świecie. W związku z powyższym, stwierdzam że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe oraz całokształt dorobku naukowego i osiągnięć dydaktycznych dr Dariusza Pytla spełniają merytoryczne i formalne wymogi stawiane kandydatom ubiegającym się o przyznanie stopnia doktora habilitowanego, określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dn. 14 marca 2003r. z późniejszymi zmianami oraz w Ustawie z dn. 3 lipca 2018r.

Elżbieta Sawicka