



Ocena

**dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego
oraz osiągnięcia naukowego pt. „Znaczenie kinazy retikulum endoplazmatycznego
PERK w patogenezie i terapii chorób nowotworowych”**

**dr n. med. Dariusza Pytela,
zatrudnionego na stanowisku młodszego profesora (*Research Assistant Professor*)
w Uniwersytecie Medycznym Południowej Karoliny
w Charleston, S.C., USA**

Dane biograficzne

Dr n. biol. Dariusz Pytel jest absolwentem Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. W 2005 r. uzyskał tytuł zawodowy magistra biologii. W tym samym roku rozpoczął staż doktorski (na stanowisku *Research Scholar*) na Wydziale Mikrobiologii i Immunologii Szkoły Medycznej Uniwersytetu Temple w Filadelfii, PA, USA. Trzy lata później Rada Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Oddziaływanie kinazy tyrozynowej BCR/ABL z glikozylazą uracylową DNA” nadała habilitantowi stopień naukowy doktora nauk biologicznych w zakresie biochemii. W tym samym roku rozpoczął staż podoktorski (na stanowisku *Postdoctoral Fellow*) na Wydziale Biologii Nowotworów Centrum Onkologii Instytutu Naukowego im. Abramson Szkoły Medycznej Perelman na Uniwersytecie Pensylwania, w Filadelfii, PA, USA, który kontynuował do 2013 roku. W międzyczasie (lata 2009-2010) dr n.biol. Dariusz Pytel odbył staż podoktorski (na stanowisku *Postdoctoral Fellow*) w Centrum Badań nad Lekami w Chorobach Neurodegeneracyjnych (LDDN) w

Szpitalu Brigham and Women's Szkoły Medycznej Harvarda w Bostonie/Cambridge, MA, USA. W okresie 2013-2014 habilitant był zatrudniony na stanowisku młodszego profesora (*Research Assistant Professor*) na Wydziale Biologii Nowotworów Centrum Onkologii Instytutu Naukowego im. Abramson Szkoły Medycznej Perelman na Uniwersytecie Pensylwania, Filadelfia, PA, USA. Od lipca 2014 do chwili obecnej dr n. biol. Dariusz Pytel pracuje na stanowisku *Research Assistant Professor* na Wydziale Biochemii i Biologii Molekularnej w Centrum Onkologii im. Hollings na Uniwersytecie Medycznym Południowej Karoliny w Charleston, SC, USA.

Ocena dorobku naukowego

Na dorobek naukowy dr n. biol. Dariusza Pytela składa się 38 prac – 26 publikacji oryginalnych i 12 poglądowych (włączając publikacje wchodzące w skład cyklu habilitacyjnego) o sumarycznym *Impact Factor* (IF) równym 135,129 i łącznej punktacji MNiSW wynoszącej 928. Po wyłączeniu cyklu pięciu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, dorobek naukowy dr n. biol. Dariusza Pytela przedstawia się następująco: 33 prace autorstwa/współautorstwa habilitanta, w tym 22 prace oryginalne i 11 prac poglądowych o łącznym IF wynoszącym 98,435 i punktacji MNiSW równej 728. Prace naukowe autorstwa/współautorstwa habilitanta są cytowane przez innych badaczy. Łączna liczba cytowań tych prac wynosi 668, a *Index Hirscha* jest równy 13.

Na początkowym etapie kariery naukowej zainteresowania dr n. biol. Dariusza Pytela dotyczyły roli onkogennej kinazy tyrozynowej BCR/ABL w oporności komórek białaczkowych na leki i promieniowanie jonizujące oraz hamowania przez preparat STI571 (imatinib) naprawy DNA w komórkach białaczkowych z ekspresją genu fuzyjnego *BCR/ABL*. Badania z zakresu tej tematyki zostały zawarte w cyklu 11 publikacji zamieszczonych m.in. w renomowanych czasopismach, takich jak: *Cancer Research* (2011) i *Leukemia* (2013). W kolejnych latach dr n. biol. Dariusz Pytel zainteresował się

nieprawidłowym fałdowaniem białek (UPR), stresem retikulum endoplazmatycznego, a także kinazą PERK. Habilitant i wsp. wykazali między innymi, że utrata PERK w modelu zwierzęcym raka piersi powoduje istotne zmniejszenie nasilenia proliferacji komórek nowotworowych, która wynika z nasilenia uszkodzeń oksydacyjnych DNA. Dr n. biol. Dariusz Pytel i wsp. wykazali, że zahamowanie kinazy PERK hamuje wzrost guza nowotworowego, co stwarza możliwość opracowania drobnocząsteczkowych inhibitorów tej kinazy i w przyszłości może odegrać rolę w terapii przeciwnowotworowej (*Oncogene* 2010).

Habilitant i wsp. dokonali pionierskiego spostrzeżenia, że FBXO4, który należy do nadrodziny białek F-box i działa jako czynnik specyficzności substratowej dla kompleksów ligazy ubikwitynowej Skp1 – Cul1 – F-box (SCF), wykazuje funkcje supresorowe w odniesieniu do wzrostu guzów na modelu czerniaka BrafV600E-zależnego (*Mol Cell Biol* 2013). Badania habilitanta i wsp. przyczyniły się do odkrycia, że DGK ζ odgrywa rolę w hamowaniu rozwoju komórek Treg i jest regulatorem w procesie tłumienia sygnalizacji Ras za pośrednictwem diacyloglicerolu (*Science Signal* 2013). Ponadto, dr n. biol. Dariusz Pytel i wsp. wykazali, że miRNA indukowane przez nieprawidłowe fałdowanie białek przyczynia się do stresu retikulum endoplazmatycznego (*Trends Biochem Sci* 2013). Inne prace dotyczące zagadnień dotyczących zjawiska UPR (*Unfolded Protein Response*), naprawy DNA i kinazy PERK zostały opisane w 11 publikacjach, przy czym w 8 z nich habilitant jest pierwszym autorem lub autorem korespondencyjnym. Zostały one zamieszczone w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, takich jak: *Curr Med. Chem* (3 publikacje), *Curr Mol Med.*, *Mol Carcinog*, *Clin Colorecat Cancer*, *Curr Alzheimer Res*, *Biomed Res Int*, *Mol Cell Biochem*, *Cytotechnology*.

Warto podkreślić, że dr n. biol. Dariusz Pytel uczestniczył w realizacji szeregu projektów naukowych. Prowadzi także współpracę z firmami farmaceutycznymi i akademickimi ośrodkami naukowymi w kraju (Uniwersytet Medyczny w Łodzi) i zagranicą

(University of Florida, Harvard Medical School, University of South Carolina, University of Pennsylvania) w zakresie badań nad inhibitorami PERK i UPR.

Reasumując, dr n. biol. Dariusz Pytel posiada znaczny, ciekawy i oryginalny dorobek naukowy, dotyczący w głównej mierze kinazy PERK i możliwości jej hamowania, który uprawnia do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego nauk medycznych.

Ocena osiągnięcia naukowego

Dr n. biol. Dariusz Pytel jako osiągnięcie naukowe wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) przedstawił cykl 5 publikacji pełnotekstowych opatrzonych wspólnym tytułem „Znaczenie kinazy retikulum endoplazmatycznego PERK w patogenezie i terapii chorób nowotworowych”. Cztery spośród powyższych publikacji stanowią oryginalne pełnotekstowe prace naukowe, natomiast piąta jest pracą poglądową. Łączny IF powyższych prac wynosi 36,694, natomiast sumaryczna punktacja MNiSW tego cyklu prac jest równa 200.

W skład cyklu weszły następujące publikacje:

1. Bobrovnikova-Marjon E, Pytel D, Riese MJ, Vaites LP, Singh N, Koretzky GA, Witze ES, Diehl JA. *PERK utilizes intrinsic lipid kinase activity to generate phosphatidic acid, mediate Akt activation, and promote adipocyte differentiation. Mol Cell Biol.* 2012, 32: 12, 2268-78 (IF=5.372, MNiSW=40).
2. Chitnis NS, Pytel D, Bobrovnikova-Marjon E, Pant D, Zheng H, Maas NL, Frederick B, Kushner JA, Chodosh LA, Koumenis C, Fuchs SY, Diehl JA. *MiR-211 is a pro-survival microRNA that regulates chop expression in a PERK-dependent manner. Mol Cell.* 2012, 48: 3, 353-64 (IF=15.280, MNiSW=50).

3. Pytel D, Seyb K, Liu M, Ray SS, Concannon J, Huang M, Cuny GD, Diehl JA, Glicksman MA. *Enzymatic characterization of ER stress-dependent kinase, PERK, and development of a high-throughput assay for identification of PERK inhibitors. J Biomol Screening.* 2014, 19: 7, 1024-34 (IF=2.423, MNiSW=25).
4. Pytel D, Majsterek I, Diehl JA. *Tumor progression and the different faces of the PERK kinase. Oncogene.* 2016, 35: 10, 1207-15 (IF=7.519, MNiSW=40).
5. Pytel D, Gao Y, Mackiewicz K, Katlinskaya YV, Staschke KA, Paredes MC, Yoshida A, Qie S, Zhang G, Chajewski OS, Wu L, Majsterek I, Herlyn M, Fuchs SY, Diehl JA. *PERK is a haploinsufficient tumor suppressor: gene dose determines tumor-suppressive versus tumor promoting properties of PERK in melanoma. PLoS Genetics.* 2016, 12: 12, 1-22 (IF=6.100, MNiSW=45).

Wszystkie prace wchodzące w skład powyższego cyklu dotyczą kinazy PERK, która jest istotnym regulatorem przeżywalności komórek i wydaje się, że jej zahamowanie może w przyszłości odegrać rolę w leczeniu przeciwnowotworowym. Kinaza PERK - kinaza lipidów - fosforyluje diacyloglicerol, biorąc udział w tworzeniu kwasu fosfatydowego. Dr n. biol. D. Pytel i wsp. w omawianym cyklu 5 publikacji wykazali, że aktywność kinazy PERK zależy od składu lipidowego membran komórkowych. PERK, dwufunkcyjny enzym, oprócz zasadniczej aktywności kinazy białkowej, fosforyluje lipidy i odgrywa ważną rolę w aktywacji kinazy AKT (fosforylacji Akt w pozycji Ser473) i utrzymaniu aktywności MAPK. Habilitant i wsp. udokumentowali także, że anty-apoptotyczny microRNA-211 indukowany jest w warunkach stresu retikulum endoplazmatycznego na drodze zależnej od PERK. Stwierdzili ponadto, że PERK bierze udział w sygnalizacji zarówno pro- jak i antyapoptotycznej. Analiza genetyczna wykonana przez dr n. biol. Dariusza Pytela i wsp. wykazała haploinsuficjencję genu *PERK* w komórkach nowotworowych (indukowanych przez mutację genu *BRAF*), która w przypadku pojedynczej kopii genu *PERK* prowadzi do

rozwoju agresywnej postaci czerniaka w porównaniu z występowaniem znacznie mniej złośliwej postaci tego nowotworu obserwowanej w przypadku delekcji obu kopii genu *PERK*. Co ciekawe, próby farmakologicznej blokady kinazy PERK u myszy przynosiły korzystny efekt w postaci ograniczenia i spowolnienia wzrostu nowotworów eksperymentalnych. Okazało się, że dwa związki skutecznie hamują aktywność kinazy PERK, przy czym pierwszy z nich wchodzi w interakcje z PERK na drodze niekompetycyjnej do miejsca wiązania ATP, zaś drugi cechuje się wyższą aktywnością w komórkach. Nowatorskie spostrzeżenia dr n. biol. Dariusza Pytela i wsp. mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie w warunkach klinicznych w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych i nowotworowych.

Należy zaznaczyć, że tematyka pięciu prac naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe dr n. biol. Dariusza Pytela jest niezwykle aktualna. Jest on pierwszym autorem 4 z nich i drugim autorem kolejnej, co jest dowodem na wiodącą rolę habilitanta w planowaniu, prowadzeniu badań naukowych i tworzeniu publikacji będących podstawą osiągnięcia naukowego. Publikacje zostały zamieszczone w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, co jest rękojmią wysokiego poziomu naukowego. Dodatkowo ich wysoka wartość naukowa jest potwierdzona zainteresowaniem innych badaczy, bowiem prace wchodzące w skład powyższego cyklu były cytowane 190 razy (wg bazy *Web of Science Core Collection* – stan z dnia 13 marca 2019).

Należy zaznaczyć, że dwie spośród prac oryginalnych zostały nagrodzone. Praca nr 1 została wyróżniona przez edytora czasopisma *Science Signaling* w oparciu o wyjątkowe zainteresowanie i znaczenie w dziedzinie badań nad przekazywaniem sygnałów komórkowych. [VanHook A. *PERK*ing up the ER stress response. *Science Signaling*. 2012, 5: 226, ec151 (IF=7.648, MNiSW=40)]. Z kolei praca nr 2 została wybrana i wyróżniona przez czasopismo *Nature Cell Biology*. [Chenette E. *MiR-211 negotiates life and death decisions*. *Nature Cell Biology*. 2012, 14: 11, 1129 (IF=20.761, MNiSW=45)].

Uważam, że osiągnięcie naukowe dr n. biol. Dariusza Pytela jest opracowaniem oryginalnym oraz wartościowym z punktu widzenia poznawczego. Ponadto stwarza ciekawe perspektywy aplikacyjne zastosowania inhibitorów PERK w chorobach neurodegeneracyjnych i nowotworowych. Jestem przekonany, iż spełnia ono wymagania stawiane cyklom publikacji na stopień doktora habilitowanego.

Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Dr n. biol. Dariusz Pytel posiada doświadczenie dydaktyczne wyrażające się opieką nad rozwojem młodych kadr naukowych. Otóż, pracując w USA był opiekunem dwóch laureatów stypendium Fulbrighta oraz opiekunem naukowym pracy magisterskiej obronionej w Szkole Medycznej Perelman na Uniwersytecie Pensylwanii. Ponadto, habilitant był promotorem pomocniczym pracy doktorskiej realizowanej na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi.

Wart odnotowania jest fakt, że dr n. biol. Dariusz Pytel jest członkiem panelu recenzentów kilku czasopism naukowych o zasięgu międzynarodowym, takich jak: *DNA and Cell Biology*, *Acta Ophthalmologica*, *Folia Histochemica et Cytobiologica* oraz *Molecular Biology Reports*. Ponadto, pełnił funkcję *Guest Editor* specjalnego wydania („*Interplay between redox signaling oxidative stress, and unfolded protein response (UPR) in pathogenesis of human diseases*”) czasopisma *Oxidative Medicine and Cellular Longevity Journal* (2019).

Wniosek końcowy

Oceniając całokształt dorobku naukowego dr n. biol. Dariusza Pytela, interesujące i oryginalne osiągnięcie naukowe, a także wkład w kształcenie młodych kadr naukowych, stwierdzam, że jest on dojrzałym i twórczym pracownikiem nauki. Prowadzone przez niego badania posiadają istotne walory poznawcze, a potencjalnie również aplikacyjne. Jest on

badaczem przygotowanym do prowadzenia samodzielnej działalności naukowej i spełnia kryteria stawiane kandydatom na stopień doktora habilitowanego nauk medycznych. W związku z powyższym, popieram wniosek o nadanie dr n. biol. Dariuszowi Pytelowi stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Białystok, 17.02.2010 r.

KIEROWNIK
Kliniki Onkologii
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
prof. dr hab. med. Marek Wojtukiewicz