

Prof. dr hab. Janusz Limon  
Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
Ul. Dębinki 1  
80-211 Gdańsk

Gdańsk-Strzyża, 14 grudnia 2018 r.

### Recenzja

**osiągnięć dr n. med. Marcina Ratajewskiego w związku z postępowaniem w sprawie nadania Jemu stopnia dra hab. w dziedzinie n. medycznych, dyscyplinie biologia medyczna**

Przedstawioną niżej ocenę przeprowadziłem na podstawie dostarczonych mi następujących materiałów: (1) autoreferatu, (2) wykazu opublikowanych przez Habilitanta prac naukowych, (3) kopii publikacji stanowiących wskazane przez Habilitanta osiągnięcie naukowe oraz oświadczenia współautorów; (4) informacje o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych; (5) płyta CV z elektroniczną wersją wniosku

#### Ocena formalna

Otrzymane przeze mnie materiały zostały starannie przygotowane i według mojej oceny spełniają wymogi formalne określone w Ustawie z dn. 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 zmianami Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365, Dz. U. z 2010 r. Nr 96, poz. 620 i Nr 182, poz. 1228 oraz Dz. U. z 2011 r. Nr 84 poz. 455).

#### Ocena merytoryczna

##### **Ocena osiągnięcia naukowego**

Jako osiągnięcie naukowe dr n. med. Ratajewski wskazał wyniki badań, które ukazały się w grupie monotematycznych publikacji pod wspólnym tytułem: "Molekularne mechanizmy regulacji genu *RORyT*". Na cykl składają się cztery oryginalne artykuły, które ukazały się w pismach międzynarodowych: *J Immunol*, 2012; *J Leukoc Biol*, 2016 i 2017; *GENES*, 2017 i o łącznym IF=17.2. W trzech artykułach dr Ratajewski jest pierwszym a w jednym ostatnim autorem.

Wymienione powyżej prace są spójne tematycznie i dotyczą identyfikacji i charakterystyki niektórych mechanizmów molekularnej regulacji ekspresji genu *RORyT* i określenie ich znaczenia w procesie różnicowania się komórek Th17.

W leczeniu chorób autoimmunologicznych duże znaczenie powinna mieć znajomość nowych „tarcz” terapeutycznych. Dlatego też genetycy zainteresowali się wpływem wariantów polimorficznych i mutacji genów mających znaczenie w mechanizmach farmakogenetycznych terapii. Głównym nurtem badawczym dr

Ratajewskiego było znaczenie ludzkiego genu *RORYT* w złożonym procesie różnicowania się komórek Th17, które odgrywają znaczącą rolę w obronie immunologicznej organizmu.

Prezentowane wyniki badań są sformułowane jasno, pomimo mnogości uzyskanych wyników badań oraz zawitości w interpretacji uzyskanych wyników zwraca uwagę ciągłość logiczna przeprowadzonych badań, systematycznie zmierzających do zasadniczego celu tzn. poznania znaczenia genu *RORYT* w procesie różnicowania się limfocytów Th17 człowieka.

Początkowo dokonano szerokiej charakterystyki dwóch genów *RORY* i *RORYT* udowadniając, że ekspresja tych genów nie występuje równocześnie w wielu tkankach. Analiza sekwencji promotorowych tych genów wykazała obecność dwóch białka USF-1 i USF-2 jako potencjalnych aktywatorów tych sekwencji i zidentyfikowano miejsca wiązań rozpoznawanych przez te czynniki transkrypcyjne (USF). Wyniki te oraz inne obserwacje poddano analizie bioinformatycznej i wysnuto po raz pierwszy przypuszczenie, że istnieje związek między czynnikami USF, które są znanymi czynnikami regulującymi ekspresję różnych genów łączonych z homeostazą glukozy i lipidów a *RORYT*. Jest to pierwsza charakterystyka sekwencji promotorowych genu *RORYT* człowieka.

Powyższe obserwacje zachęciły dr Ratajewskiego do kolejnych badań, także *in silico*, tym razem do określenia, które elementy w znalezionej uprzednio sekwencji związanej z inicjacją transkrypcji-180/+78 są ważne dla prawidłowej ekspresji tego genu. Wyniki badań wskazały na dwa miejsca GC-BOX1 i GC-BOX2 w proksymalnym promotorze genu *RORYT* wiążące białka Sp1 i Sp2, które są niezbędne do prawidłowej funkcji promotora. Ponadto wykazano, że białko Sp2 wiążące się z tymi miejscami jest ważnym regulatorem ekspresji tego genu w ludzkich limfocytach.

Kolejnym wyzwaniem dr Ratajewskiego stało się poszukiwanie wariantów polimorficznych w promotorze genu *RORYT*. Był to słuszny kierunek badań, bo wiadomo że warianty polimorficzne mogą mieć znaczny wpływ na stopień ekspresji genu. Wykryto istnienie czterech wariantów i dla każdego z nich przeprowadzono badania funkcjonalne. Ogólnie wykazano, że badane cztery polimorfizmy w miejscu GC-BOX2 mogą potencjalnie hamująco wpływać na ekspresję powyższego genu, co może mieć implikacje w odpowiedzi immunologicznej, lub na mniejszą podatność na choroby autoimmunologiczne. Dodatkowo ważna była obserwacja potwierdzająca poprzednie wyniki badań Habilitanta – miejsce GC-BOX2 odgrywa kluczową rolę w zachowaniu aktywności promotora genu *RORYT*.

Ostatnim zadaniem badawczym było określenie udziału deacetylaz histonów w regulacji ekspresji genu *RORYT* w komórkach Th17. Zastosowano kilka inhibitorów deacetylazy histonów i odkryto, że efekt ich działania zależy od

stopnia zróżnicowania komórek Th17. Efekt ten należy brać pod uwagę w strategii użycia inhibitorów deacetylaz histonowych w leczeniu chorób autoimmunologicznych oraz nowotworowych.

Jest rzeczą oczywistą, że opisane po raz pierwszy przez dr Ratajewskiego niektóre wyniki badań, nie znajdują szybkiego zastosowania w praktyce lekarskiej, ale wnoszą istotne informacje do terapii chorób autoimmunologicznych człowieka, szczególnie w odniesieniu do roli komórek Th17. Zwraca uwagę fakt, że dr Ratajewski, w odróżnieniu od wielu innych badaczy, jest bardzo ostrożny w formułowaniu ewentualnego znaczenia wyników swoich badań w praktyce klinicznej.

Wszystkie wymienione wyżej publikacje są współautorskie, niemniej z oświadczeń pozostałych autorów, a także biorąc pod uwagę czołową pozycję nazwiska Habilitanta wśród nazwisk autorów, uważam, że udział dr Ratajewskiego w powstaniu wszystkich z nich był kluczowy. Zatem prace te mogą być uznane za istotny wkład Habilitanta w rozwój biologii medycznej (jako dyscypliny naukowej), przy czym spełniają definicję osiągnięcia naukowego.

### **Ocena aktywności naukowej**

Dorobek naukowy dr Marcina Ratajewskiego, z włączeniem czterech prac wchodzących w skład Jego osiągnięcia naukowego, stanowią na dzisiaj 24 publikacje, które ukazały się w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Dr Ratajewski w większości artykułów (16) jest pierwszym lub ostatnim autorem. W *PubMed* znajduje się 24 publikacji o łącznym IF=82. Liczba cytowani wg *Scopus* wynosi 293 a h-indeks 11. Dr Ratajewski uczestniczył w siedmiu konferencjach międzynarodowych. Odbył kilka staży naukowych krótkoterminowych w Instytucie Enzymologii Akademii Nauk w Budapeszcie.

### **Pozostałe kierunki badań naukowych**

W autoreferacie dr Ratajewski podaje pięć tematów badawczych, których wyniki były przedmiotem kilkunastu publikacji. Zwracają uwagę badania molekularne nad opornością wielolekową czerniaków. Pomimo, że znana jest możliwość celowanej terapii w przypadku mutacji w genie *BRAF*, ale dalsze badania są konieczne bo nie wszystkie guzy czerniaka wykazują mutacje w tym genie. Dr Ratajewski dokonał obserwacji wrażliwości komórek czerniaka na mitramycynę C biorąc pod uwagę wiele czynników molekularnych w tym cały panel genów kodujących białka odporności wielolekowej. Z kolei badania ekspresji genu *HIF-1A* w różnych komórkach wykazała znacznie wahania tej aktywności. Dokonano szeregu korelacji ekspresji tego genu np. z hipermetylacją wyspy CpG w sekwencji 5'flankującej czy wpływ kaucyneuryny. Były to szczegółowe obserwacje funkcji ważnego genu, ale bez przełożenia na szersze

aspekty mechanizmów choroby. W ostatnich latach pojawiły się prace Habilitanta na temat poszukiwań substancji aktywujących receptor jądrowy PRX. Jest to ważne zjawisko polegające na oddziaływaniu ksenobiotyków na receptory jądrowe co w konsekwencji może prowadzić na efektów ubocznych. Przedmiotem badań stał się znany gen *PRX*, który reguluje ekspresję wielu genów np. rodziny *CYP* i innych. Wykazano konkretne efekty oddziaływania kwasu mykofenolowego indukującego *CYP3A4*, którego białko uczestniczy w metabolizmie newarapiny. Interesujące wyniki badań uzyskał dr Ratajewski nad genetycznym podłożem choroby tkanki łącznej (PXE). Dotyczyły one mutacji i wariantów polimorficznych genu *ABCC6* skutkujące zaburzeniami ekspresji tego genu oraz badaniami czynników regulujących funkcję tego genu. Choroby mitochondrialne i związane z nimi mutacje określonych genów były, jak się wydaje, marginalnym zainteresowaniem dr Ratajewskiego. Badania dotyczyły zbadania roli niektórych czynników na regulację funkcji genu *GDAP1* – wykazano m.in., że ekspresja tego genu nie występuje wyłącznie w komórkach nerwowych.

Wszystkie powyższe prace są różnorodne tematycznie i jest to powszechne zjawisko, że biolodzy molekularni, dysponując odpowiednim warsztatem badawczym stają się partnerami lekarzy w poszukiwaniu podłoża genetycznego chorób lub określają molekularne mechanizmy wrażliwości na leki.

Ważnym osiągnięciem Habilitanta było kierowanie pięcioma projektami badawczymi i współwykonywanie dwóch innych grantów Narodowego Centrum Nauki. Zdobywanie środków finansowych na realizację badań jest bowiem ważne w świetle możliwości prowadzenia prac naukowych na wysokim poziomie i pośrednio świadczy o zdolnościach organizacyjnych Kandydata. Uważam, że aktywność naukowa dr Ratajewskiego jest wysoka i spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.

### ***Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej***

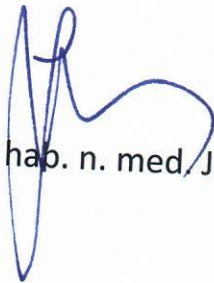
Z racji pracy w Instytucie Biologii Medycznej PAN (od 2004 roku), dr Ratajewski nie prowadzi regularnych zajęć dydaktycznych ze studentami. Opiekował się studentami z wyższych uczelni z Łodzi przebywających na stażach w Instytucie. Był opiekunem części doświadczałnej jednej pracy magisterskiej i częściowo pracy doktorskiej.

Za swoją działalność naukową dr Ratajewski otrzymał szereg nagród, głównie lokalnych. Na uwagę zasługuje fakt uznania jego osiągnięć naukowych poprzez przyznanie Jemu stypendium START w 2010 roku (FNP) oraz stypendium dla wybitnych naukowców za lata 2015-18 z MNiSW. Ponadto otrzymywał stypendia na udział w konferencjach międzynarodowych.

W podsumowaniu, uważam iż oceniany dorobek naukowy odpowiada wymaganiom stawianym kandydatom do stopnia doktora habilitowanego n. biologicznych w dyscyplinie biologia medyczna.

**Wniosek końcowy**

Biorąc pod uwagę moją ocenę osiągnięcia naukowego i aktywności naukowej a także pracy organizacyjnej Habilitanta uważam, że osiągnięcia dr n. biol. Marcina Ratajewskiego spełniają kryteria określone w art. 16 ustawy z dn. 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 zmianami Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365, Dz. U. z 2010 r. Nr 96, poz. 620 i Nr 182, poz. 1228 oraz Dz. U. z 2011 r. Nr 84 poz. 455).



Prof. dr hab. n. med. Janusz Limon