



Dr hab. med. Bartosz Słomiński
Katedra i Zakład Immunologii Medycznej
Wydział Lekarski
Gdański Uniwersytet Medyczny
ul. Dębinki 1
80-211 Gdańsk

Gdańsk, 19.09.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej
Pani mgr Magdaleny Węsierskiej
pt. „Terapia obniżenia wydajności syntezy substratu z zastosowaniem
flawonoidów w mysim modelu mukopolisacharydozy typu I”

Mukopolisacharydozy (MPS) stanowią największą grupę lizosomalnych chorób spichrzeniowych, u podłoża których leżą defekty genetyczne skutkujące brakiem lub istotnym niedoborem aktywności określonych hydrolaz znajdujących się w lizosomach. Jej deficyt powoduje wewnątrz- i zewnątrzkomórkową masową akumulację glikoaminoglikanów (GAG), których postępujące spichrzanie prowadzi do uszkodzenia tkanek i narządów, a w konsekwencji dysfunkcji wielu układów organizmu. Cechą charakterystyczną lizosomalnych chorób spichrzeniowych jest ich genetyczna i kliniczna heterogenność. W chwili obecnej wyróżnia się 8 typów i 14 podtypów MPS, w zależności od rodzaju nieprawidłowo funkcjonującego enzymu i akumulowanych GAG. Różnorodne mutacje jednego genu mogą wywoływać zarówno fenotyp klinicznie ciężki – wówczas choroba ujawnia się w okresie niemowlęcym, jak i mieć przebieg znacznie łagodniejszy, w którym mniej nasilone objawy pojawiają się znacznie później. Na obraz kliniczny MPS składają się najczęściej zmiany w wyglądzie twarzy, zaburzenia układu kostnego, oddechowego i sercowo-naczyniowego, uszkodzenia słuchu i wzroku, powiększenie narządów mięszzowych, choroby zębów i przyzębia oraz w różnym stopniu manifestujące się objawy ze strony układu nerwowego. Do przedwczesnego zgonu chorych dochodzi zazwyczaj w pierwszej bądź drugiej dekadzie życia, przede wszystkim na skutek niewydolności układu oddechowego, sercowo-naczyniowego bądź powikłań pooperacyjnych.

Mukopolisacharydozy są chorobami nieuleczalnymi i mimo ogromnego postępu w ostatnim czasie możliwości terapii są bardzo ograniczone, a ich celem jest jedynie spowolnienie rozwoju choroby i poprawa jakości życia. Historycznie najstarszą metodą leczenia jest przeszczep szpiku kostnego, stosowany nadal w przypadku niektórych typów czy podtypów MPS. Dzięki rozwojowi biotechnologii

i biologii molekularnej opracowano nowe możliwości leczenia MPS, przede wszystkim enzymatyczną terapię zastępczą, czy będące na etapie badań eksperymentalnych terapie genowe, leczenie chaperonami i terapie stymulujące odczyt przedwczesnych kodonów STOP. Najwięcej nadziei wiązano z enzymatyczną terapią zastępczą, która polega na dostarczeniu do organizmu chorego wadliwego enzymu. Jak się później okazało metoda ta, z wielu powodów, nie jest oczekiwanym złotym środkiem w leczeniu MPS i dlatego cały czas poszukuje się nowych opcji terapeutycznych. Jedną z nich jest spowolnienie procesu spichrzania GAG poprzez redukcję syntezy tych związków. W ten nurt badań idealnie wpisuje się przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Węsierskiej pt. „Terapia obniżenia wydajności syntezy substratu z zastosowaniem flawonoidów w mysim modelu mukopolisacharydozy typu I”. Znaczenie naukowe i praktyczne tej tematyki nie pozostawia żadnych wątpliwości i jej podjęcie jest jak najbardziej uzasadnione.

Prezentowana do oceny rozprawa została wykonana w Katedrze Biologii i Genetyki Medycznej Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem promotora, Pani prof. Joanny Jakóbkiewicz-Baneckiej oraz dr Marceliny Malinowskiej jako promotora pomocniczego. Głównym celem rozprawy było poszerzenie wiedzy na temat potencjalnych zastosowań flawonoidów w terapii obniżania wydajności procesu syntezy substratu, przede wszystkim w kontekście mukopolisacharydozy typu I. Szczegółowo cel ten był realizowany poprzez scharakteryzowanie wybranych związków i ich mieszanin pod kątem cytotoksyczności, wpływu na aktywność metaboliczną komórek, właściwości antyproliferacyjnych, potencjału zmniejszania wydajności procesu syntezy GAG oraz ocenę możliwości ich użycia z wykorzystaniem mysiego modelu MPS I. Tak postawiony cel naukowy należy uznać za istotny, a jego realizacja odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim. Niewątpliwą korzyścią dla Doktorantki był też fakt, iż ośrodek, w którym praca została wykonana ma ugruntowaną światową pozycję w zakresie tematyki ocenianej rozprawy doktorskiej. Doktorantka zatem mogła skorzystać i z powodzeniem skorzystała z solidnej wiedzy i warsztatu badawczego Zespołu.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa w postaci monografii ma klasyczny układ dla tego typu prac eksperymentalnych, liczy 167 stron i podzielona jest na właściwe rozdziały. Tytuł dysertacji w pełni odpowiada zawartej w niej treści i postawionym do rozwiązania problemom badawczym. Informacje omawiane w obszernym „Wstępie” świadczą o dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki, która wykazała się doskonałą znajomością literatury przedmiotu. Jest to wartościowa część rozprawy napisana na wysokim poziomie merytorycznym i mogłaby stanowić samodzielną pracę przeglądową. Rozdział „Materiały i metody” opisuje wyczerpująco zastosowane odczynniki oraz użyte w doświadczeniach hodowle komórkowe i zwierzęce. Szczegółowo charakteryzuje też strategie przeprowadzonych doświadczeń, zarówno biochemicznych jak i na mysim modelu MPS I. Ilość zaplanowanych analiz niewątpliwie wymagała od Doktorantki dużego zaangażowania i pracowitości, a ich właściwe przeprowadzenie pozwoliło uzyskać cenne i znaczące wyniki, które zostały starannie

opracowane i przedstawione w kolejnym rozdziale dysertacji, stanowiącym zasadniczą część rozprawy. Rozdział „Wyniki” odzwierciedla realizację poszczególnych zadań badawczych postawionych przez Doktorantkę na początku pracy. Jest on napisany w sposób czytelny i uporządkowany, a zaprezentowana dokumentacja w formie rycin i tabel nie budzi większych zastrzeżeń, co przy ponadprzeciętnej liczbie przeprowadzonych analiz i całego szeregu uzyskanych wyników nie było rzeczą prostą. Na uwagę zasługuje też fakt, iż wszystkie kluczowe wartości eksperymentalne wyznaczono na podstawie kilku niezależnych pomiarów i wszędzie tam, gdzie było to uzasadnione, przeprowadzono odpowiednią analizę statystyczną, która istotnie potwierdza zaobserwowane różnice. „Dyskusja” podsumowuje uzyskane wyniki w świetle najnowszych danych literaturowych oraz zakładanego celu pracy. Lektura tego rozdziału przekonuje mnie, że Doktorantka jest w pełni dojrzałym badaczem zdolnym do przeprowadzenia bardzo wielu niełatwych doświadczeń, a także właściwego ich wytłumaczenia i przedstawienia na tle aktualnej wiedzy. Ostrożnie wyciąga też wnioski z wyników eksperymentów, unikając tym samym ich nadinterpretacji. Piśmiennictwo, na które powołuje się Autorka liczy 166 pozycji, głównie z ostatnich lat, co potwierdza też aktualność tematu będącego przedmiotem dysertacji. Ostatnim rozdziałem są „Wnioski końcowe” stanowiące ich zwięzłą prezentację w kontekście postawionego celu rozprawy. Należy w tym miejscu podkreślić, iż cel ten został bez wątplenia osiągnięty, a uzyskane wyniki oprócz aspektu poznawczego mają też potencjalny charakter aplikacyjny – analizowane w tej pracy flawonoidy i ich mieszaniny są obiecującymi związkami, które mogłyby w przyszłości znaleźć zastosowanie w leczeniu mukopolisacharydoz.

Niezależnie od mojej pozytywnej oceny rozprawy doktorskiej, z obowiązku recenzenta, nie mogę pominąć pewnych uwag krytycznych. Ponadto, przy tak obszernej rozprawie i ogromnej ilości wyników doświadczeń, muszą się także pojawić pytania i wątpliwości, które przedstawiam poniżej.

1. Autorka w kilku miejscach rozprawy powołuje się na pracę doktorską pani dr Wioletty Nowickiej, niestety nie umieściła tej pozycji w bibliografii.

2. Nazwa „układ immunologiczny” (str. 31, 45, 145) jest niepoprawna. Taki układ nie istnieje, podobnie jak nie istnieją układy: kardiologiczny, neurologiczny czy gastrologiczny. Jedynym poprawnym polskim określeniem jest „układ odpornościowy”.

3. Brakuje informacji jak często podawano testowane związki zwierzętom doświadczalnym.

4. Rezygnacja z podawania placebo grupie kontrolnej jest, moim zdaniem, błędem. Jeżeli nawet podawanie soli fizjologicznej nie powoduje zmiany stężenia GAG w tkankach czy moczu, to ze względu na inwazyjność i stresogenność zabiegu może mieć wpływ na zachowanie się zwierząt. A to również było przedmiotem oceny w tej pracy.

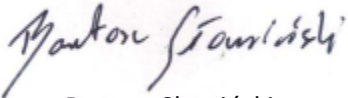
5. Niepoprawne jest stosowane wielokrotnie określenie „poziom” zamiast „stężenie”.

6. Dane na izobogramach dla mieszaniny biochaniny A i kemferolu nie zgadzają się z wynikami przedstawionymi w odpowiednich tabelach (Rycina 13 i Tabela 13; Rycina 15 i Tabela 14; Rycina 17 i Tabela 15).

7. Warto byłoby zbadać wpływ flawonoidów na komórki układu odpornościowego, np. na wyizolowane od osób zdrowych i chorych na MPS jednojądrzaste komórki krwi obwodowej. Byłoby to ciekawe choćby z uwagi na fakt, iż GAG biorą udział w inicjacji odpowiedzi immunologicznej, a ich spichrzanie stymuluje układ odpornościowy. Poza tym wiadomo też, że izoflawony modulują odpowiedź immunologiczną. To oczywiście wybiega poza tematykę tej pracy, ale jako immunolog nie mogłem się tutaj oprzeć tej sugestii.

Lista powyższych uwag i wątpliwości absolutnie nie umniejsza wartości merytorycznej dysertacji. Przedłożoną mi do recenzji pracę doktorską Pani Magdaleny Węsierskiej zaliczam do bardzo interesującego i wartościowego opracowania, w którym przedstawiono i przekonująco uzasadniono tezy badawcze i która ewidentnie wnosi istotne elementy nowości naukowej. Co bardzo istotne dla ocenianej dysertacji, znacząca część zawartych w niej wyników została już opublikowana w uznanym czasopiśmie naukowym (*International Journal of Molecular Sciences*; IF = 5.6), co świadczy o nowości i wysokim poziomie przeprowadzonych badań. Trzeba też podkreślić, iż Pani Magdalena Węsierska jest pierwszą autorką tej publikacji.

W związku z powyższym stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca spełnia wszelkie wymogi dotyczące rozpraw doktorskich określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595 z późn. zm.), w zw. z art. 179. Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1669 z późn. zm.). Dlatego też zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Węsierskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, biorąc pod uwagę wartość naukową, potencjał aplikacyjny wyników oraz ogrom pracy wniesiony przez Doktorantkę wnioskującą o stosowne wyróżnienie dysertacji.



Bartosz Słomiński