

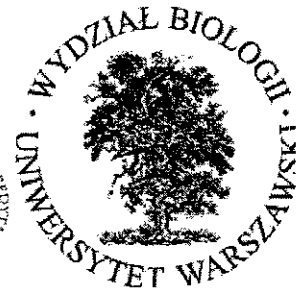


*wpt. 18.05.2019*  
Instytut Genetyki i Biotechnologii  
UNIwersytet Warszawski  
WYDZIAŁ BIOLOGII

ul. PAWIŃSKIEGO 5A, 02-106 WARSZAWA

TEL: (+22) 592-22-44, FAX: (+22) 658-41-76

<http://www.igib.uw.edu.pl>



Prof. dr hab. Ewa Bartnik

tel. 592 22 47

e-mail: [ebartnik@igib.uw.edu.pl](mailto:ebartnik@igib.uw.edu.pl)

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Perzynowskiej pt. „Indukcja autofagii jako mechanizm działania genisteiny w eksperymentalnej terapii chorób neurodegeneracyjnych”

promotor – prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn

Przedstawiona do recenzji praca podejmuje bardzo ciekawe zagadnienie – co można zrobić by zwalczyć jedną z plag ludzkości – choroby neurodegeneracyjne. Praca wykorzystuje ogromne doświadczenie grupy kierowanej przez promotora pracy, profesora Grzegorza Węgrzyna, w stosowaniu genisteiny do próby leczenia mukopolisacharydozy, wiadomo było, że związek ten jest bezpieczny i że przechodzi przez barierę krew-mózg.

Praca jest złożona z czterech publikacji doktorantki, we wszystkich ostatnim i korespondującym autorem jest promotor a pierwszym autorem pani mgr Perzynowska. Prace te ukazały się w czasopismach z listy filadelfijskiej o IF od około 2,5 do około 4 w latach 2018 i 2019. Do publikacji dołączone są

oświadczenia od wszystkich współautorów a prace są poprzedzone wstępem w języku polskim i angielskim, a do ostatniej pracy dołączone są dwa zestawy materiałów dodatkowych. Prace były finansowane z kilku projektów, w tym z 3 grantów otrzymanych przez doktorantkę – Preludium z Narodowego Centrum Nauki oraz dwóch grantów młodych naukowców z Uniwersytetu Gdańskiego.

Wstęp stanowi bardzo dobre wprowadzenie do reszty rozprawy i tłumaczy dlaczego wybrano genisteinę i dlaczego zajęto się dwiema chorobami dla których obecnie nie istnieją terapie – monogenową czyli chorobą Huntingtona i o złożonej etiologii a za to bardzo częstą – chorobą Alzheimera.

W zasadzie poza wstępem wszystkie prace przeszły już przez recenzje przed publikacją, więc mam parę uwag głównie do wstępu. Nie należy stosować pisowni “egzon” – musi być ekson, wynika to z historii powstania tego określenia – za Wikipedia “The term *exon* derives from the expressed region and was coined by American biochemist Walter Gilbert in 1978: “The notion of the cistron... must be replaced by that of a transcription unit containing regions which will be lost from the mature messenger – which I suggest we call introns (for intragenic regions) – alternating with regions which will be expressed – exons.”]

Druga uwaga to raczej przeoczenie, bo prawidłowy podział obszaru powtórzeń CAG w genie huntingtyny jest podany w jednej z publikacji, ale we wstępie jest napisane „przypadki 27-39 powtórzeń stanowią grupę przejściową”, a tak naprawdę to są dwie grupy, jak jest podane w pracy Perzynowska i wsp. (NeuroMolecular Medicine, 2018, jednej z czterech prac stanowiących rozprawę doktorską) przedział 27-35 to osoby zdrowe, ale powtórzenie może się wydłużyć w następnych pokoleniach a 36-39 to osoby z ryzykiem zachorowania na chorobę Huntingtona ale o obniżonej penetracji mutacji. Mam jeszcze jedną wątpliwość trochę z podobnej dziedziny – skąd pochodzą dane o tym, że 15% przypadków choroby Alzheimera jest uwarunkowanych genetycznie – są dość różne dane w literaturze, a tu nie jest podane źródło.

Nie podoba mi się określenie „zdrowej formy tego białka” – zdrowy lub chory może być człowiek, białko może być niezmutowane, natywne lub typu dzikiego.

Ponieważ wstęp nie ma numerowanych stron to trochę trudno jest lokalizować bardzo nieliczne literówki ale na stronie 8 (zapewne) jest „izoflawnonu”. To co jest ciekawe to, że numery stron są podane w spisie treści ale strony niestety poza pierwszymi pięcioma i ostatnimi (dorobek naukowy) nie są numerowane.

Pokrótko, ponieważ prace były już recenzowane wspomnę tylko, że jedna z nich to praca przeglądowa o stymulowaniu autofagii jako podejściu do leczenia chorób neurodegeneracyjnych. Na końcu wprowadzony jest pomysł, że skoro nie ma żadnych sprawdzonych substancji bardzo dobre by było zastosowanie genisteiny. Gdyby autorzy w przyszłości wracali do tego tematu warto wrócić do opisu kwasu walproinowego – jest bardzo często stosowany u chorych z chorobą Huntingtona, z drugiej strony wiadomo, że bardzo jest niewskazany przy chorobach mitochondrialnych, o ile choroba Huntingtona ma też podłoże w jakiejś dysfunkcji mitochondriów może warto by było temu się bliżej przyjrzeć.

Trzy pozostałe prace to prace eksperymentalne. Dwie dotyczą badania wpływu genisteiny na wzrost i autofagię komórek najpierw modelowych – linia HEK293 z wprowadzonymi bądź normalnymi (23 powtórzenia) bądź patogennymi (74 powtórzenia) fragmentami genu huntingtyny podłączonymi do GFP. Badano wpływ tych konstruktów na różne parametry wzrostu komórek a także wpływ genisteiny na tworzenie agregatów fragmentów huntingtyny z dużą liczbą powtórzeń glutaminy. Podobne badania acz nieco bardziej skomplikowane bo nie było możliwe rozróżnienie dwóch form białka przeprowadzono w kolejnej pracy na 4 liniach fibroblastów od pacjentów z chorobą Huntingtona i na 4 liniach od odpowiednio dobranych kontroli. Wszystkie te badania pokrótce pokazały, że w sposób zależny od stężenia genisteina zmniejsza tworzenie agregatów i że to

zależy od aktywnej autofagii, zahamowanie tego procesu usuwało stwierdzany efekt genisteiny.

Ostatnia praca badała wywołaną przez wstrzyknięcie streptozocyny chorobę Alzheimera u samców szczura, i stwierdziła badając różne aspekty zachowania szczurów i ich możliwości intelektualne, że znowu genisteina odwraca niekorzystne efekty wstrzyknięcia streptozocyny. Tak z ciekawości bym prosiła o komentarz – w niektórych tabelach z materiałów dodatkowych wygląda na to, że po genisteinie szczury osiągają lepsze wyniki niż bez niej – nawet w porównaniu ze szczurami nietraktowanymi. I mam jedną sugestię – choroba Alzheimera dotyka częściej kobiet niż mężczyzn, sugerowałabym jednak także badania nad samicami szczura, choć wiem że są one pod wieloma względami trudniejsze do badania.


Ponieważ umowa prosi o szczegółowe podanie pewnych elementów w recenzji, zrobię to bardzo zwięźle. Uważam, że praca jest świetna, a uzyskane wyniki nawet jeśli nie doprowadzą do terapii dwóch ciężkich chorób to wskazują w jaką stronę mogą iść dalsze próby opracowania leków, co w szczególności przy chorobie Alzheimera (choroba Huntingtona jest dużo rzadsza, więc nie jest tej rangi problemem) wygląda obecnie ponuro, bo zwalczanie beta-amyloidu nie wydaje się nic wnosić. Praca jest napisana pod względem językowym poprawnie. Może warto dodać, że prace te już po to by mogły się ukazać były recenzowane przez kompetentnych recenzentów.

O ile chodzi o ocenę metodologiczną – zakres stosowanych metod i biologii komórkowej i badania behawioru szczurów jest bardzo szeroki i wskazuje na znakomite opanowanie przez doktorantkę naprawdę wielu skomplikowanych technik. Podobnie warto wspomnieć o świetnym opanowaniu literatury przedmiotu i to w bardzo szerokim ujęciu – sama praca przeglądowa stanowiąca część rozprawy doktorskiej podaje 180 pozycji literaturowych.

### Wniosek końcowy

Rozprawa ta spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Wnoszę więc do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie pani mgr Perzynowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na to, że praca jest oparta na czterech pierwszoautorskich publikacjach wnoszę też o wyróżnienie tej rozprawy odpowiednią nagrodą. Chyba nie przesadzę, jeśli dodam że taki zestaw prac byłby zupełnie wystarczający jako osiągnięcie naukowe przy habilitacji, a mówię to jako wieloletni członek Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów, który niejedną habilitację w swoim życiu widział.

Warszawa, dn. 22.05.2019

  
Prof. dr hab. Ewa Bartnik

