

Recenzja przejrana
Wniosek o wyrażenie
Przezięta
Wydziału Lekarskiego
ds. Nauki
M. Pawłowska
prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Sylwestra Michała Kloski Pt. Methods for Energy metabolism modeling using queueing theory.”

Promotor:

Dr hab. n. med. Marcin Woźniak, prof. UMK

Drugi promotor:

Prof. dr hab. inż. Tadeusz A. Wysocki

Promotor pomocniczy:

Dr inż. Tomasz Marciniak, prof. PBŚ

Metabolizm to zasadniczo zbiór procesów oraz mechanizmów, które zachodzą w komórkach żywych organizmów mających na celu uzyskanie energii z pożywienia, wykorzystania jej składników do odżywienia całego organizmu oraz zmagazynowania ewentualnego nadmiaru. Dodatkowy cel to pozyskanie prekursorów do wytworzenia nowych makrocząsteczek np. do budowy DNA czy białek. Można powiedzieć, że istnieje ścisła chronologia, sprecyzowana kolejność zdarzeń precyzyjnie regulowana przez szereg związków pośrednich powstających w trakcie przemian metabolicznych, cząsteczek które czekają aby zostać wykorzystane do dalszych przemian, cząsteczek, które będą regulowały te przemiany i staną się jako produkt, substratem do nowych przemian.

Z punktu widzenia pacjenta istotna jest diagnostyka i odpowiednie terapeutyczne podejście z wykorzystaniem odpowiedniego modelu badań z możliwością wykorzystania w praktyce. Metabolizm oparty na przemianach komórkowych „sięga” do modelu obliczeniowego, który powinien mieć wpływ na skrócenie czasu oczekiwania na odpowiedź komórkową mającą miejsce przy wykorzystaniu modeli badawczych z udziałem zwierząt. Zastosowanie odpowiedniego modelu pozwoli na wykorzystanie teorii z udziałem cząsteczek w procesach diagnostycznych, terapeutycznych i farmakologicznych.

W niniejszej rozprawie doktorskiej wykorzystano teorie kolejek celem utworzenia komputerowych modeli biorących udział w stymulacji cyklu pentozowego, cyklu Krebsa a także oparto teoretyczny model badawczy na fragmencie regulacji komórkowej, sygnalizacji komórkowej zaangażowanej w proces w przypadku komórki prawidłowej jak i komórki patologicznej, Teoria kolejek nie jest powszechnie stosowana w modelowaniu procesów komórkowych co podkreśla nowatorski charakter wykonanej pracy, przygotowanej pod opieką prof. UMK dr hab. n.med. Marcina Woźniaka z Wydziału medycznego, Prof. dr hab. Inż. Tadeusza A. Wysockiego i prof. PBŚ dr inż. Tomasza Marciniaka z Wydziału Telekomunikacji, Informatyki i Elektrotechniki Politechniki w Bydgoszczy.

W skład rozprawy doktorskiej mgr Sylwestra Michała Kloska, napisanej w języku angielskim wliczone są trzy prace oryginalne opublikowane w czasopiśmie z łącznym IF=15,679 i łącznej wartości punktów MEiN=440. W opublikowanych pracach, doktorant

występuje jako autor korespondencyjny, współ-korespondencyjny oraz jako pierwszy autor, co podkreśla znaczący udział doktoranta w powstałych i opublikowanych pracach.

Dysertacja zawiera także wstęp (18 stron), omówienie podstawowych założeń (1 strona) i spis stosowanych skrótów (2 strony) cele badań, krótkie omówienie opublikowanych prac, kopie publikacji, wnioski oraz Bibliografię (79 pozycji). Dołączono także oświadczenia współautorów a także streszczenie w języku polskim i angielskim.

Zamieszczony wstęp prawidłowo wprowadza w tematykę omawianą w dalszych etapach przez doktoranta. W pracy wykorzystano teorię kolejek ale także dane z weryfikacji komputerowych modeli biorących udział w regulacji istotnie metabolicznych przemian jak Cykl Krebsa (TCA), cykl pentozofosforanowy (PPP) i fragment jednej z kaskad sygnalizacji komórkowej zależnej od insuliny. Metabolizm przechodzi przez różne fazy regulacji w zależności od poziomu glukozy – tu wspomniana regulacja GAPDH/mTORC1/GLUT4, zapotrzebowania na energię i inne produkty istotne z punktu poziomu regulacji.

W trakcie swojej pracy doktorant realizował i analizował kilka etapów pośrednich:

- (I). Ocena skuteczności uzyskanych modeli badawczych w regulowaniu/stymulowaniu jak i kontroli stężeń w powstających przemianach i następnie zaangażowanych w regulację sygnalizacji komórkową
- (II). Ocena możliwości wykorzystania modelu szlaku pentozofosforanowego do szacowania efektów hamowania dehydrogenazy 6-fosfoglukonoanowej jako efekt spadku ekspresji genu kodującego to białko i powiązaniem efektów terapeutycznych w przypadku raka płuc,
- (III). Przeprowadzenie analizy możliwości wykorzystania modelu Cyklu Krebsa (TCA) do szacowania efektów działania leków w różnej kombinacji wykorzystywanych do leczenia raka piersi i zastosowania hamowania aktywności kluczowego enzymu glikolizy – dehydrogenazy pirogronianowej oraz
- (IV). W oparciu o model GAPDH/mTORC1/GLUT4 szacowanie roli mTORC1 i syntezy cząsteczek transporterów glukozy GLUT4 biorących udział w ich transporcie.

Przeprowadzone badania wydają się istotne pod kątem możliwości wykorzystania i utworzenia i modelowania procesów związanych z regulacją głównych przemian metabolicznych i regulacją cyklu komórkowego.

Wydaje się, że największe oparcie merytoryczne na przyjętych, uznanych strategiach postępowania występuje w opublikowanej pracy doktoranta Kloska z 2021 roku. Wykorzystanie modeli zarówno dla PPP jak i TCA oraz dostępnych danych literaturowych, celem obliczenia szybkości reakcji enzymatycznej w oparciu o praktyczne równanie Michaelisa-Menten, równania stosowanego powszechnie do obliczeń enzymatycznych wydaje się mieć szerokie zastosowanie praktyczne.

Założenia modelu GAPDH/mTORC1/GLUT4 oparto najprawdopodobniej o prawo zachowania mas, ale podane informacje przez doktoranta w przedstawianych materiałach tzn. w przygotowanym materiale i publikacji nie są jednoznaczne. Doktorant zastosował także algorytm genetyczny do optymalizacji wartości wyznaczanych parametrów a w modelach „przepływu równoważającego” stara się wykorzystać niektóre metabolity w sposób korelujący z przemianami metabolicznymi. W opracowywanych modelach istnieje możliwość dodawania, zmiany, uzupełniania przyjętych założeń o nowe wartości istotnych związków pośrednich (intermediatów) występujących/pojawiających się w literaturze. Takie

projektowanie ma istotne znaczenie, ponieważ pozwala na wykorzystanie aktualnych stężeń związków występujących w komórce, co daje możliwość uzyskania dokładniejszych danych i wypracowanie pełniejszego modelu schematów procesów komórkowych.

Należy podkreślić, co jest efektem dodanym, że doktorant posiada odpowiednią wiedzę na temat modelowanych procesów komórkowych, ich złożonego charakteru, konieczności precyzyjnego wykorzystywania stężeń celem prawidłowej regulacji w układach komórkowych. Warto dodać, że doktorant dysponuje wiedzą w odniesieniu do modelu badawczego, że jest to tylko schemat uproszczony, a rzeczywiste programowanie przemian metabolicznych wymaga ogromnej precyzyjności i kontrolowania aktualnych stężeń metabolitów tak aby przemiany metaboliczne były poprowadzone zgodnie z zapotrzebowaniem komórki w danej sytuacji energetycznej i metabolicznej, co jest bardzo skomplikowanym procesem wymagającym kontroli na poziomie metabolicznym jak także molekularnym.

Rozprawa doktorska jest oparta na 3 opublikowanych pracach oryginalnych. W swojej dysertacji jak i opublikowanych pracach doktorant przedstawił kilka podstawowych założeń i na ich podstawie można wnioskować, że:

- I. na bazie teorii kolejek, zastosowany model TCA pozwala na przeprowadzenie symulacji integralnych reakcji biochemicznych cyklu komórkowego w tzw. czasie rzeczywistym co więcej przedstawia analizę efektów działania proponowanych leków, co wydaje się istotne z pkt widzenia możliwości zastosowania odpowiedniej terapii, indywidualnie do dawki leku i w odniesieniu do możliwości ich testowania na podstawie wybranych reakcji, co pozwoliłoby na zastosowanie odpowiedniej dawki w odniesieniu do konkretnego pacjenta
- II. proponowany w oparciu o teorię kolejek model PPP zakłada symulację w czasie bardzo zbliżonym do czasu rzeczywistego w oparciu o zmianę stężeń, które mogą mieć wykorzystanie do zastosowania terapeutycznego. Efekty takiej korelacji przedstawiono na podstawie danych literaturowych oraz efektów spowodowanych spadkiem ekspresji genu kodującego dehydrogenazę 6-fosfoglukonanową, jednego z istotnych enzymów szlaku pentozofosforanowego
- III. ostatnia symulacja przedstawiona przez doktoranta jest włączeniem w regulację modelu elementu szlaku sygnalizacyjnego w korelacji z poziomem glukozy w komórce, a więc efektem działania insuliny na szlak GAPDH/mTORC1/GLUT4 co pozwala na pokazanie korelacji pomiędzy rolą dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego (GAPDH) a aktywnością kompleksu mTORC1 oraz ekspresją transportera glukozy GLUT4.

ISTNIEJE kilka aspektów na które chciałabym zwrócić uwagę:

1. Powstawanie acetylo-CoA nie jest jedynie zabezpieczone dzięki obecności pirogronianu, można także wykorzystać w tym aspekcie inne związki.
2. Glikoliza i cykl pentozo-fosforanowy są przemianami, które zachodzą we wszystkich komórkach, zatem wymienianie w których zachodzą nie jest konieczne, ponieważ ogranicza możliwość wykorzystania
3. Zasadne byłoby wyjaśnienie roli GAPDH w odniesieniu do białka Rheb i jednocześnie jej roli w regulacji aktywności kompleksu mTORC1. W przedstawionym opisie i publikacji widnieją pewne nieścisłości w odniesieniu do tej regulacji,
4. Proszę o wyjaśnienie rozbieżności obserwowanych pomiędzy modelem GAPDH/mTORC1/GLUT4 gdzie doktorant opisuje rolę kinazy białkowej B wraz z procesem

starzenia się a w opisywanym modelu gdzie dyskutowany jest fragment szlaku sygnalizacji z udziałem transportera GLUT 4 w obecności kompleksu mTORC1 oraz dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego.

5. Proszę o podanie, wyjaśnienie korelacji pomiędzy założeniami stosowanymi w modelu obliczeniowym a praktycznym wykorzystaniem w odniesieniu do regulacji biologicznej w przypadku konkretnego pacjenta. W jaki sposób obliczenia w modelu badawczym identyfikują nam konkretne geny i konkretne szlaki sygnalizacji komórkowej biorące udział w danych stanach chorobowych, w danych patologich oraz jak możemy to wykorzystać w metodach terapeutycznych.

6. Jaka istnieje możliwość zastosowania teorii kolejek w przypadku zahamowania aktywności któregoś z enzymów w szlaku sygnalizacji komórkowej, czy teoria kolejek może to uwzględnić??

7. Czy istnieje jakiegokolwiek ograniczenie co do ilości szlaków sygnalizacyjnych podlegających jednoczesnej kontroli względem możliwości wykorzystania proponowanej symulacji? Wydaje się interesujące zastosowanie teorii do indywidualnego pacjenta, z konkretną regulacją, czy jest możliwe??

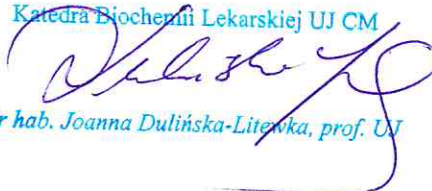
8. Czy przyjęcie tych samych parametrów w strumieniu Poissona oraz w strumieniu obsługi zgłoszeń jest właściwe? Czy oznacza to, że stężenia będą takie same?

9. Innym podejściem jest wykorzystanie sieci Jacksona najprostszego rodzaju sieci kolejkowej, w której liczba zgłoszeń jest nieograniczona. Czy brano pod uwagę także ten rodzaj podejścia do wykorzystania terapeutycznego??

Wymienione pytania, sugestie i uwagi nie wpływają negatywnie na wartość merytoryczną przedstawionej dysertacji mgr Sylwestra M. Kloska. Przedstawione wyniki odnoszą się do możliwości modelowania symulacyjnego procesów metabolicznych czy komórkowych z możliwością zastosowania ich w terapii poprzez wykorzystanie odpowiednich leków czy ich wpływu na sygnalizację komórkową. Takie podejście stwarza szanse na możliwości aplikacyjne zastosowanych modeli badawczych.

Doktorant, mgr Sylwester M. Klocek wykazał się szeroką wiedzą i dojrzałością w zakresie wprowadzania teorii kolejek, jak i analizowania uzyskanych wyników. W pewnym sensie przedstawiona praca posiada nowatorskie podejście i bardzo praktyczny charakter.

Podsumowując przedstawioną dysertację, stwierdzam, że praca mgr Sylwestra M. Kloska pt. „Methods for energy metabolism modeling using queueing theory” prezentuje bardzo dobry poziom naukowy i spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20.07.2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 poz. 85 z późn.zm), wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Sylwestra M. Kloska do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk medycznych oraz wnioskuję o WYRÓŻNIENIE przedstawionej rozprawy doktorskiej.

Katedra Biochemii Lekarskiej UJ CM

dr hab. Joanna Dulińska-Liteńska, prof. UJ