



Recenzja
wniosku o mianowanie
Prodziekan
Wydziału Lekarskiego
ds. Nauki
Prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska

UNIwersYTET IM. ADAMA MICKIEWICZA W POZNAŃU
Wydział Biologii
Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii

Prof. dr. hab. Hanna Kmita
kmita@amu.edu.pl

Poznań, 06.05.2023

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Sylwestra M. Kloski

pt. „Methods for energy metabolism modelling using queueing theory”

W badaniach procesów komórkowych, szczególnie z punktu widzenia działań diagnostycznych czy terapeutycznych, istotne znaczenie ma uzyskanie adekwatnego i wiarygodnego modelu. Rozwój biologii obliczeniowej pozwala na modelowanie *in silico* procesów komórkowych, z czym wiąże się szansa na ograniczenie badań z wykorzystaniem zwierząt, jak i skrócenie badań klinicznych. W związku z tym, modelowanie *in silico* zmian w procesach komórkowych w warunkach zdrowia i choroby oraz działania terapeutycznego może mieć istotne implikacje aplikacyjne w medycynie, w tym farmakologii. Niniejsza rozprawa doktorska dotyczy wykorzystania teorii kolejek do stworzenia komputerowych modeli symulacyjnych cyklu i szlaku metabolicznego oraz fragmentu kaskady sygnalizacyjnej związanej z regulacją metabolizmu. Teoria kolejek jest podejściem stosowanym powszechnie w telekomunikacji, a jej zastosowanie w przypadku modelowania procesów komórkowych ma charakter nowatorski. Rozprawa ta powstała pod opieką prof. UMK dr hab. Marcina Woźniaka (Wydział Medyczny UMK) oraz prof. dr hab. inż. Tadeusza A. Wysockiego i prof. PBŚ. dr inż. Tomasza Marciniaka (Wydział Telekomunikacji, Informatyki i Elektrotechniki, Politechnika Bydgoska).

Rozprawa doktorska mgr Sylwestra M. Kloski składa się z trzech prac oryginalnych opublikowanych w czasopismach z listy JCR (łączy IF = 15,679; łączna wartość punktów MEiN = 440). W publikacjach tych mgr Sylwester M. Kloska jest pierwszym autorem oraz autorem korespondującym lub współ-korespondującym, co wskazuje na jego kluczową rolę w ich powstaniu. Publikacje te w przesłanym opracowaniu zostały uzupełnione Wstępem, Krótkim omówieniem i Wnioskami. Podstawowym celem rozprawy było stworzenie, na bazie

ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań
tel. +48 61 829 5553

biologia.amu.edu.pl ibmib.amu.edu.pl

teorii kolejek, oraz weryfikacja komputerowych modeli symulujących cyklu Krebsa (TCA), cyklu pentozofosforanowego (PPP) i fragmentu kaskady sygnalizacyjnej uruchamianej przez insulinę (GAPDH/mTORC1/GLUT4). Dlatego, mgr Sylwester M. Kloska skoncentrował się na następujących celach cząstkowych: (1) ocena skuteczności otrzymanych modeli w symulowaniu i śledzeniu zmian w stężeniach analizowanych metabolitów w czasie rzeczywistym; (2) ocena możliwości zastosowania modelu TCA do oszacowania efektu działania kombinacji leków stosowanych w terapii raka piersi, na przykładzie hamowania dehydrogenazy pirogronianowej; (3) ocena możliwości wykorzystania modelu PPP do określenia skutku hamowania dehydrogenazy 6-fosfoglukonianowej, wynikającego z obniżenia ekspresji kodującego ten enzym genu, co związane jest z efektem terapeutycznym w przypadku raka płuc; (4) wykorzystanie modelu GAPDH/mTORC1/GLUT4 do określenia wpływu aktywności mTORC1 na liczbę cząsteczek transporterów glukozy GLUT4, zaangażowanych w jej transport przez błonę komórkową. Przeprowadzone badania i uzyskane wyniki stanowią istotny i zarazem bardzo ciekawy wkład w modelowanie *in silico* procesów komórkowych.

Najpełniejszy opis wykorzystania teorii kolejek w modelowaniu procesów metabolicznych oraz wykorzystanego podejścia obliczeniowego zawarty jest w pracy Kloska i in., 2021 (*Bioinformatics*). Opublikowanie tej pracy stanowi uznanie przyjętej strategii postępowania przez grono specjalistów. W przypadku modeli TCA i PPP, dostępne dane literaturowe wykorzystano do obliczenia szybkości reakcji w oparciu o równania Michaelisa-Menten. Natomiast w modelu GAPDH/mTORC1/GLUT4 wykorzystano prawdopodobnie prawo zachowania mas (informacje na ten temat w źródłowej publikacji i opracowaniu przygotowanym przez doktoranta nie są jednoznaczne). Istotnym uzupełnieniem przyjętego podejścia jest też zastosowanie algorytmu genetycznego do optymalizacji wartości wyznaczanych parametrów oraz w dwóch pierwszych modelach tzw. „przepływu równoważającego” (ang. balancing flow), imitującego zaangażowanie niektórych metabolitów w inne procesy metaboliczne. Istotną wartością otrzymanych modeli jest możliwość ich uzupełniania w oparciu o nowe dane literaturowe, w tym zmiana zakresu zmienności stężeń analizowanych cząsteczek, jak i ich łączenie w celu uzyskania pełniejszego obrazu modelowanych procesów komórkowych. Co ważne, doktorant dysponuje wiedzą na temat złożoności modelowanych procesów komórkowych i zdaje sobie sprawę z faktu, iż otrzymane przez niego modele operują w warunkach uproszczonej sytuacji metabolicznej i/lub sygnalizacyjnej. Należy także podkreślić świadomość znaczenia „homogenności” danych literaturowych.

Na podstawie przygotowanego przez mgr Sylwestra M. Kloskę opracowania, jak i przedstawionych publikacji, można sformułować następujące wnioski:

1. w oparciu o symulację zmian stężenia metabolitów stworzony, na bazie teorii kolejek, model TCA pozwala na symulację wchodzących w jego skład reakcji chemicznych w

- czasie rzeczywistym, jak i symulację skutku działania analizowanych leków, co daje możliwość testowania leków na podstawie selekcji reakcji optymalnej dla ich działania, jak i optymalizacji ich stężenia;
2. uzyskany w oparciu o teorię kolejek model PPP pozwala na symulację zachodzących w tym szlaku zmian stężenia metabolitów w czasie zbliżonym do rzeczywistego, co pozwala na wykorzystanie go do wskazania etapów o dużym potencjale terapeutycznym, co wykazano na podstawie, opartej na danych literaturowych, symulacji efektu obniżenia ekspresji genu kodującego dehydrogenazę 6-fosfoglukonianową;
 3. uzyskany na bazie teorii kolejek model fragmentu szlaku sygnalizacyjnego uruchamianego przez insulinę (GAPDH/mTORC1/GLUT4) pozwala na symulację związku przyczynowo-skutkowego między stanem funkcjonalnym dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego (GAPDH), aktywnością kompleksu mTORC1 i liczbą cząsteczek transportera GLUT4, zaangażowanego w transport glukozy do komórki.

Podsumowując, wyniki uzyskane przez mgr Sylwestra M. Kloskę dostarczyły istotnych informacji dotyczących symulowania *in silico* procesów komórkowych; tj. tworzenia wiarygodnych modeli opartych na teorii kolejek i ich wykorzystania w analizowaniu komórkowych skutków działania leków. Zatem, przyczyniają się one do zwiększenia wiedzy dotyczącej modelowania symulacyjnego procesów komórkowych w stanie zdrowia i choroby, co może mieć znaczenie aplikacyjne.

Jak wspomniano powyżej, rozprawa doktorska mgr Sylwestra M. Kloski oparta jest na trzech opublikowanych pracach oryginalnych. Przygotowane przez niego opracowanie, w języku angielskim, obejmuje: Wykaz opublikowanych prac wraz z podstawowymi danymi naukowymi, Listę skrótów, Wstęp, Cele badań, Krótkie omówienie opublikowanych prac, Kopie opublikowanych prac, Wnioski, Bibliografię, Oświadczenia współautorów oraz Streszczenia w języku polskim i angielskim. Wstęp dobrze wprowadza w zagadnienia związane z modelowaniem *in silico* procesów komórkowych, teorią kolejek, kinetyką enzymatyczną i modelowanymi w ramach rozprawy procesami komórkowymi. Muszę jednak zaznaczyć, że nie wszystkie enzymy są białkami, w szlakach metabolicznych nie dochodzi do generacji energii (tylko jej przekształcania), a utlenianie pirogronianu nie jest jedynym źródłem acetylo-CoA dla cyklu Krebsa. Bibliografia, obejmująca 79 pozycji, stanowi adekwatne wsparcie Wstępu i Krótkiego omówienia opublikowanych prac. Krótkie omówienie opublikowanych prac ma charakter opisowy, przy czym zarówno praca Kloska i in., 2022 (PLoS ONE), jak i jej omówienie, zawierają błąd dotyczący roli cząsteczek GAPDH wiążących białko Rheb w regulacji aktywności kompleksu mTORC1. Chociaż opublikowane prace są dostępne on line, doktorant mógłby zadbać o lepszą jakość ich kopii. Wnioski są omówieniem znaczenia przeprowadzonych badań i świadczą o badawczej dojrzałości doktoranta. Jednak

ta część zawiera także stwierdzenia nie znajdujące poparcia w opublikowanych danych. Dotyczy to prac Kloska i in., 2022, opublikowanych w *Scientific Reports* i PLoS ONE. Przedstawiony model PPP nie był weryfikowany w kierunku metabolizowania leków i ich usuwania z organizmu. Natomiast w przypadku modelu GAPDH/mTORC1/GLUT4 doktorant koncentruje się na kinazie białkowej B i procesie starzenia, podczas gdy opisywany model dotyczy fragmentu szlaku sygnalizacyjnego obejmującego regulację mobilizacji cząsteczek transportera GLUT4, zachodzącą z udziałem kompleksu mTORC1 i dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego. W streszczeniach doktorant umiejętnie wskazuje najważniejsze ustalenia i wnioski wynikające z przeprowadzonych badań. Jednak formułuje także wnioski, które wymagałyby wyjaśnienia. Dlatego, byłabym wdzięczna za wyjaśnienie, w jaki sposób modele otrzymane w ramach biologii obliczeniowej mogą symulować biologię pacjenta, i w jaki sposób mogą doprowadzić do identyfikacji konkretnych genów, białek i procesów komórkowych, zaangażowanych w patogenezę stanów chorobowych oraz przewidzieć skuteczność metod terapeutycznych?


Byłabym także wdzięczna za uzyskanie odpowiedzi na następujące pytania:

1. Które ze stwierdzeń dotyczących modelu GAPDH/mTORC1/GLUT4 jest właściwe? Model ten został oparty na prawie zachowania mas (opracowanie przygotowane przez doktoranta), czy model ten został oparty na równaniach kinetyki enzymatycznej Michaelisa-Menten (Kloska i in., 2022, PLoS ONE)?
2. Dlaczego skuteczność mobilizacji transporterów GLUT4 (Kloska et al., 2022, PLoS ONE) mierzono ich liczbą w pęcherzykach, a nie po wprowadzeniu w błonę komórkową, co jest warunkiem ich włączenia się w transport glukozy przez tę błonę?
3. Czy istnieją ograniczenia pojemnościowe modeli tworzonych w oparciu o teorię kolejek, dotyczące liczby procesów metabolicznych (szlaki i cykle) i kaskad sygnalizacyjnych poddanych symulacji?
4. Czy modele symulacyjne oparte na teorii kolejek są w stanie rozróżnić brak enzymu, obecność jego nieaktywnej formy i całkowite hamowanie?
5. Czy modele oparte na teorii kolejek mogą być użyteczne dla fluksomiki?

Wymienione powyżej uwagi i pytania nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej mgr Sylwestra M. Kloski. Uzyskane wyniki dotyczą ważnych kwestii dotyczących modelowania symulacyjnego procesów komórkowych, w tym kaskad sygnalizacyjnych i przekształceń metabolicznych oraz ich wykorzystania w analizie efektu działań terapeutycznych (leki, wyciszenie ekspresji genu kodującego enzym). Biorąc pod uwagę możliwe wykorzystania otrzymanych modeli, wyniki te mogą przyczynić się do rozwoju rozwiązań aplikacyjnych.

Podsumowując, rozprawa doktorska mgr Sylwestra M. Kloski jest świadectwem jego wiedzy, uzasadniającym ubieganie się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki

medyczne. Dostarczona dokumentacja potwierdza, że mgr Sylwester M. Kloska ma umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Co więcej, rozprawa doktorska mgr Sylwestra M. Kloski stanowi nowatorskie i oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jakim jest modelowanie symulacyjne procesów komórkowych i oddziaływania na te procesy czynników terapeutycznych. W związku z tym, niniejsza rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ust. ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Zatem, wnoszę o dopuszczenie mgr Sylwestra M. Kloski do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Co więcej, jestem przekonana, że rozprawa doktorska mgr Sylwestra M. Kloski zasługuje na wyróżnienie.



Hanna Kmita

