

**Recenzja rozprawy doktorskiej
Pana magistra Łukasza Wituckiego
pt. „Epigenetyczny mechanizm deregulacji szlaku sygnałowego mTOR i procesu
autofagii w nowych mysich modelach choroby Alzheimer’a”**

Choroba Alzheimer’a jest jedną na najczęstszych przyczyn otępienia umysłowego. Mimo wielu lat pracy nad mechanizmami tej choroby, jej etiologia jest do tej pory niewystarczająco poznana. Uważa się, że gromadzenie się złogów β -amyloidu oraz hiperfosforylowanego białka tau jest główną przyczyną tej choroby, jednak jest oczywistym, że istnienie wiele czynników i procesów w sposób istotny wpływających na pojawienie się oraz przebieg tego schorzenia.

Punktem wyjścia do badań opisanych w rozprawie doktorskiej Pana magistra Łukasza Wituckiego były wcześniejsze obserwacje innych badaczy, wskazujące na aktywację szlaku sygnałowego mTOR w przypadku choroby Alzheimer’a. Stymulacja kinazy mTOR skutkuje między innymi fosforylacją czynnika TFEB, co w konsekwencji nie pozwala na efektywną ekspresję genów kodujących białka lizosomalne i w ten sposób hamuje proces autofagii. Może to skutecznie obniżać usuwanie β -amyloidu oraz hiperfosforylowanego białka tau i w konsekwencji powodować ich akumulację. Inne prace wskazują, że w ośrodkowym układzie nerwowym pacjentów chorych na chorobę Alzheimer’a występuje

podwyższony poziom homocysteiny. Co więcej, obniżona jest aktywność enzymów hydrolizujących tiolakton homocysteiny, w szczególności paraoksonazy 1 oraz hydrolazy bleomycyny. W świetle tego, że hiperhomocysteinemia może skutkować zahamowaniem autofagii, Doktorant jako cel swoich badań wskazał analizę wpływu dysfunkcji genów kodujących czynniki zaangażowane w metabolizm tiolaktonu homocysteiny na chorobę Alzheimera, podkreślając rolę procesu autofagii. Badania przeprowadzone zostały na mysich modelach tej choroby. Praca wykonana została pod kierunkiem promotora, Pana profesora Hieronima Jakubowskiego, którego osiągnięcia naukowe w zakresie badań nad homocysteiną i jej wpływem na rozwój różnych chorób znane są od wielu lat. Doktorant miał zatem zapewnioną znakomitą opiekę merytoryczną.

Pan mgr Łukasz Witucki, w rozprawie doktorskiej, przedstawił opis długiej serii doświadczeń, których wyniki przyczyniły się do znacznego pogłębienia naszej wiedzy dotyczącej molekularnego patomechanizmu choroby Alzheimera. W szczególności, przeprowadzone badania wykazały, że niedobór hydrolazy bleomycyny i dieta bogata w metioninę skutkują zaburzeniami poznawczymi u myszy, jak również neurodegeneracją. Te same czynniki, w połączeniu z deficytem paraoskonazy 1 oraz syntazy β -cystationiny, powodowały zwiększony poziom prekursora amyloidu oraz samego β -amyloidu w mózгах zwierząt. W warunkach takich dochodzi do podwyższenia poziomów tiolaktonu homocysteiny oraz homocysteiny. Skutkiem tego obserwuje się obniżenie poziomu demetylazy histonowej oraz aktywację kinazy mTOR, zapewne przy udziale mechanizmów epigenetycznych (ze względu na obserwowany podwyższony poziom markera metylacji DNA), co prowadzi do zahamowania procesu autofagii w mózгах myszy.

Wymienione powyżej w skrócie rezultaty badań pozwoliły na zaproponowanie mechanizmu stymulacji gromadzenia się β -amyloidu w wyniku zaburzeń metabolizmu homocysteiny, poprzez zahamowanie procesu autofagii. Są to niewątpliwie ważne naukowo wyniki, wskazujące jednoznacznie na rozwiązanie

problemu naukowego przez Pana magistra Łukasza Wituckiego. W tym świetle chciałbym zapytać Doktoranta o jego opinię na temat proponowanej w literaturze strategii potencjalnego leczenia pacjentów z chorobą Alzheimera poprzez stymulację procesu autofagii. Czy takie podejście Doktorant uważa za potencjalnie skuteczne i obiecujące i dlaczego tak albo nie?

Rozprawa doktorska Pana magistra Łukasza Wituckiego przedstawiona została w postaci cyklu trzech artykułów opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych – *Cells*, *Journal of Inherited Metabolic Disease* oraz *Journal of Alzheimer's Disease*. We wszystkich tych artykułach Pan mgr Łukasz Witecki jest pierwszym autorem. Dziwi nieco inny format artykułu przedstawionego w rozprawie doktorskiej jako publikacja w *Cells*, w stosunku do tego co można znaleźć na oficjalnej stronie www tego czasopisma (ewidentnie nie jest czysta kopia artykułu opublikowana w czasopiśmie, a raczej jego wersja nieco inaczej sformatowana), aczkolwiek treści merytoryczne obu wersji są zgodne. O ile nie mam istotnych uwag krytycznych dotyczących strony merytorycznej pracy, gdyż doświadczenia zostały poprawnie zaplanowane i wykonane, a ich wyniki logicznie zinterpretowane, o tyle mam dwa zastrzeżenia dotyczące przygotowania redakcyjnego rozprawy.

Po pierwsze, Streszczenie rozprawy doktorskiej nie zawiera żadnych informacji o uzyskanych wynikach badań. Po krótkim przedstawieniu dotychczasowego stanu wiedzy, tekst tego rozdziału kończy się opisaniem celów badań. Streszczenie jest niezwykle ważną częścią każdej publikacji naukowej, gdyż wskazywać powinno na najważniejsze odkrycia oraz kluczowe wnioski płynące z pracy. W krótkim tekście obrazować ono powinno to, co dana praca wnosi do nauki oraz zachęcić czytelnika do zapoznania się z treścią całego dzieła. Niestety streszczenie tej pracy zupełnie nie zachęca do jej przeczytania, gdyż nie mówi nic o osiągnięciach naukowych w niej opisanych. Nie spełnia zatem ono swojej podstawowej roli.

Po drugie, w przypadku rozprawy doktorskiej przedstawionej w postaci cyklu dwu- lub wielo-autorskich artykułów, w celu właściwej oceny osiągnięć doktoranta konieczne jest wyodrębnienie roli jaką odegrał on w każdej z prac. Służą temu oświadczenia współautorów publikacji. Co prawda oświadczenia takie zostały załączone do rozprawy doktorskiej Pana magistra Łukasza Wituckiego, ale mam poważne zastrzeżenia do ich treści. W przypadku dwóch artykułów, w których autorami są Doktorant oraz Jego promotor, oświadczenia te są ze sobą sprzeczne – z jednych wynika bowiem, jakoby wszystkie doświadczenia i analizy statystyczne wykonał Pan mgr Łukasz Witucki, z drugich, że wszystkie doświadczenia wykonał Pan prof. Hieronim Jakubowski. Jak zatem było naprawdę? Recenzent nie jest w stanie określić wkładu Doktoranta w każdą z tych prac.

Jeszcze gorsza sytuacja ma miejsce w przypadku trzeciej publikacji, gdzie oświadczenia wszystkich współautorów mają identyczną treść i sugerują, że każda osoba wykonała praktycznie wszystkie doświadczenia i analizy. Co gorsze, treści tak sformułowanych oświadczeń są sprzeczne z analogicznymi oświadczeniami zamieszczonymi w samym artykule, w sekcji zatytułowanej „AUTHOR CONTRIBUTIONS”. Z oświadczeń zawartych w artykule wynika na przykład, że niektórzy autorzy brali udział tylko w analizach przeprowadzonych przy użyciu mikroskopii konfokalnej, podczas gdy ci sami autorzy, w oświadczeniach załączonych do rozprawy doktorskiej twierdzą, że wykonali także wszystkie pozostałe doświadczenia i analizy opisane w publikacji. Jak zatem było naprawdę? To samo dotyczy wszystkich autorów tego artykułu. Tak przygotowane oświadczenia w żaden sposób nie pokazują co konkretnego zrobił Doktorant w procesie badań i przygotowania publikacji. W związku z tak niewłaściwie przygotowanymi oświadczeniami, o wkładzie Pana magistra Łukasza Wituckiego do publikacji składających się na jego rozprawę doktorską wnioskuję jedynie na podstawie tego, że jest pierwszym autorem w każdej z nich, zatem zapewne ogrywał w tych pracach kluczową rolę.

Powyższe uwagi redakcyjne, mimo że utrudniają analizę rozprawy doktorskiej, nie umniejszają osiągnięć merytorycznych, które oceniam wysoko. Zakładając zatem, że obecność nazwiska Doktoranta na pierwszym miejscu listy autorów każdego z artykułów wchodzących w skład tej rozprawy świadczy o Jego wiodącym udziale merytorycznym mogę stwierdzić, że Pan mgr Łukasz Witucki wykazał się wiedzą teoretyczną z zakresu prowadzonych badań oraz umiejętnościami prowadzenia prac naukowych i rozwiązywania problemów naukowych. Na tej podstawie uznaję, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie 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, ze zm.) oraz w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. 2018 poz. 261). W związku z tym, wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Pana magistra Łukasza Wituckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn