

prof. dr hab. med. Michał Witt
Wydział Lekarski Akademii Mazowieckiej w Płocku
Adres korespondencyjny:
ul. Podolska 21
60-615 Poznań
michalpwitt@gmail.com

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Zuzanny Cyske

pt.

Mukopolisacharydoza-plus (MPSPS): pierwsze badania molekularnego mechanizmu choroby w aspekcie opracowania terapii

Przedstawiona do oceny rozprawa przygotowana została w Katedrze Biologii Molekularnej na Wydziale Biologii Uniwersytetu Gdańskiego pod okiem promotorskim prof. dr. hab. Grzegorza Węgrzyna celem uzyskania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. Poświęcona jest charakterystyce rzadkiego zespołu chorobowego mukopolisacharydoza-plus.

Z wielką uwagą śledzę aktywność laboratorium prof. Węgrzyna na polu chorób rzadkich. To wielka zasługa dla badań medycznych, gdyż pole to nie przyciąga zbyt wielu chętnych. Gdańskie laboratorium od wielu lat konsekwentnie eksploruje tematykę badawczą związaną z mukopolisacharydozami, w całym spektrum ich różnorodności. Pamiętam pierwszy oceniany przez mnie lata temu doktorat z tej tematyki, ze znakomitą analizą głównie zagadnień fenotypowych i behawioralnych. Badania mukopolisacharydoz ewoluowały w Gdańsku stopniowo, by w końcu dojść do finezyjnej biologii molekularnej i regulacji ekspresji genów.

Tematyka badawcza chorób rzadkich często przegrywa z innymi badaniami, choćby chorób cywilizacyjnych czy nowotworowych. W niczym nie podważając istotności badań tych ostatnich stwierdzić trzeba, że badanie chorób rzadkich oznacza ciągłe borykanie się z poważnymi problemami klinicznymi, technicznymi, logistycznymi, itp. Jak sama nazwa wskazuje, rzadkość poszczególnych rozpoznań chorób rzadkich w istotny sposób ogranicza dostęp do materiału badawczego. Często musi być on przesyłany na dalekie odległości, co naraża sam materiał na możliwość łatwego zniszczenia, a badacza, na ogół młodego, na związaną z tym frustrację. Nie bez znaczenia jest kwestia finansowania badań, która w odniesieniu do chorób rzadkich przedstawia się bardzo niekorzystnie, znacznie gorzej niż inne obszary badań medycznych. A przecież 7% populacji świata jest dotknięte tymi chorobami, w samej Europie to 30 milionów ludzi. Ponadto prawie połowa zgonów przed 15 r. ż. jest efektem chorób rzadkich i są one odpowiedzialne za 30% hospitalizacji dzieci. Jak widać, choroby

rzadkie wcale nie są takie rzadkie, a problem medyczny przez nie powodowany jest niezwykle poważny. Zaledwie dla 5% tych chorób dostępne jest leczenie, z reguły niezwykle kosztowne. Średnio dopiero siódma postawiona diagnoza jest właściwa, a dziecko i rodzice do tego czasu przechodzą bolesną i kosztowną odyseję diagnostyczną trwającą latami.

Przedstawiona do oceny praca składa się z czterech publikacji wyd o wkładzie w ich powstanie drukowanych (ostatnia, czwarta wydrukowana dosłownie w czasie pisanie tych słów recenzji), poprzedzonych zwięzłym 10-stronicowym wstępem, który stanowi streszczenie całości w języku polskim i angielskim. Do wszystkich publikacji załączono komplet stosownych oświadczeń.

Publikacja nr 1 *The rare disease burden: a multidimensional challenge* zamieszczona w Acta Biochimica Polonica 2025 stanowi dogłębne, wielostronne i wyczerpujące omówienie problemów związanych z opieką nad chorymi z chorobami rzadkimi. Autorka uwzględniła takie sprawy jak problemy chorych, wyzwania dla rodziców, rodzin i opiekunów, wyzwania dla badaczy, wyzwania dla lekarzy, pomoc społeczna. Autorka spojrzała znacznie dalej niż można byłoby się spodziewać po osobie wykonującej na co dzień mokrą pracę laboratoryjną, co jest szczególną wartością tego –jak to Autorka precyzuje – narracyjnego przeglądu. Zwraca uwagę fakt, że prof. Węgrzyn nie jest współautorem tej publikacji, co świadczy o etosie publikacyjnym funkcjonującym w tej grupie.

Publikacja nr 2 *Mucopolysaccharidosis-Plus syndrome: is this a type of mucopolysaccharidosis or a separate kind of metabolic disease?* zamieszczona w International Journal of Molecular Sciences 2024 to także praca przeglądowa, zawierająca jednocześnie wiele oryginalnych przemyśleń Autorki. Autorka szczegółowo wyjaśnia kliniczne i metaboliczne cechy zespołu MPSPS, przedstawiając również patogenezę zespołu, opartą głównie na dysfunkcji produktu genu *VPS33A*. Najważniejszym elementem publikacji jest dość rewolucyjna hipoteza badawcza stawiana przez Autorów mówiąca, że zespół MPSPS powodowany jest spichrzaniem glukozaaminoglikanów nie w lizosomach, jak we wszystkich MPS, ale w endosomach jako efekt zaburzonego transportu pęcherzykowego. Ponadto Autorka dokonuje szczegółowego porównania objawów MPSPS z klasycznymi MPS w zakresie objawów wykrywanych w trakcie diagnostyki prenatalnej, różnic rozwojowych, centralnego układu nerwowego, serca, płuc, szkieletu, nerek. Oddzielny podrozdział dotyczy potencjalnych terapii MPSPS, co doskonale przygotowuje grunt do praktycznych zastosowań własnych wyników badań.

W tym miejscu chciałbym włączyć się do podjętej przez Autorkę dyskusji dotyczącej definicji mukopolisacharydoz, a w efekcie pytania czy MPSPS to kolejny podtyp

mukopolisacharydozy, czy odrębna jednostka chorobowa. W medycynie liczą się fakty, stąd zawsze najważniejszy jest ostateczny efekt patomechanizmu choroby, bezpośrednio lub pośrednio wpływający na stwierdzane objawy chorobowe. Stąd mniejszą wagę przykładałbym do nieobecnej w MPSPS dysfunkcji enzymów lizosomalnych, na korzyść procesu patologicznej akumulacji GAG w endosomach komórek chorego, powodującej pojawienie się określonych objawów określanych obecnie jako mukopolisacharydoza-plus. Myślę, że obdarzenie tej jednostki chorobowej stosownym numerem po akronimie MPS byłoby właściwym rozwiązaniem.

Publikacja nr 3 *Cellular and molecular changes in mucopolysaccharidosis-plus syndrome caused by a homozygous c.599G > C (p.Arg200Pro) variant of the VPS33A gene* to praca oryginalna zamieszczona w Journal of Applied Genetics 2025. Autorka przedstawia tu swoje zasadnicze badania mechanizmów patogenetycznych MPSPS. Badania prowadzone były w oparciu o fibroblasty pochodzące od jedyne polskiego chorego na MPSPS noszącego wariant c.599G > C (p.Arg200Pro) genu *VPS33A*, wskazując na specyficzne zmiany w wakuolach komórkowych, podwyższony poziom białka EEA1 (niezbędnego na etapach fuzji wczesnych i późnych endosomów oraz sortowania wczesnych endosomów), zmiany w morfologii aparatu Golgiego, obniżony poziom F-aktyny i podwyższony poziom α - i β -tubulin, a także podwyższony poziom białek LC3-II i p62 (markerów autofagii). Wyniki uzyskane przez Autorkę mogą sugerować, że poważnie obniżony poziom wariantu p.Arg200Pro genu *VPS33A* może powodować nieprawidłowy transport endosomalny, co może skutkować nieefektywnym dostarczaniem GAG do lizosomów i ich późniejszym gromadzeniem się w komórkach. Może to wywołać kaskadę zaburzeń drugorzędowych i trzeciorzędowych. De facto w ten sposób Autorka potwierdziła własną hipotezę odnośnie patogenezy i patomechanizmu MPSPS przedstawioną wcześniej w publikacji nr 2.

Publikacja nr 4 *The use of genistein and ambroxol is an effective approach in correcting cellular dysfunctions of mucopolysaccharidosis-plus syndrome* zamieszczoną w ostatniej chwili, rzutem na taśmę w Mammalian Genome 2025 stanowi opis sprawdzania hipotezy, że zahamowanie degradacji białek proteasomów przez genisteinę oraz degradację białek związanych z retikulum endoplazmatycznym przez ambroksol może skutkować podwyższeniem poziomu zmutowanego, częściowo aktywnego *VPS33A* i przywróceniem prawidłowego transportu endosomalnego. Wykorzystując fibroblasty pochodzące od pacjentów z MPSPS Autorka wykazała, że traktowanie komórek genisteiną i ambroksolem spowodowało podwyższenie poziomu zmutowanego białka *VPS33A*, a także poprawę lub korektę innych defektów komórkowych stwierdzanych w MPSPS, w tym poziomu GAG,

markerów endosomalnych i elementów cytoszkieletu. W świetle tych wyników oraz biorąc pod uwagę, że zarówno genisteina, jak i ambroksol zostały wcześniej uznane za bezpieczne w stosowaniu w stosunkowo dużych ilościach Autorka zaproponowała, że stosowanie tych związków, a zwłaszcza ich kombinacja, może stanowić potencjalnie optymalne podejście terapeutyczne w MPSPS.

Na zakończenie moja uwaga dotycząca tytułu rozprawy pani mgr Cyske. Czy w związku z zastosowaniem głównie całej baterii metod badawczych, będących instrumentarium typowym dla badań w zakresie biologii komórki, nie powinien on brzmieć raczej: "Mukopolisacharydoza-plus, pierwsze badania wewnątrzkomórkowego mechanizmu choroby...". Oczywiście w niczym nie podważa to mojej bardzo wysokiej oceny przedstawionej rozprawy.

Ocena

Rozprawa doktorska pani mgr Cyske, szczególnie w publikacjach 1 i 2 prezentuje taką porcję wiedzy teoretycznej, że nie można mieć cienia wątpliwości co do opanowania jej w stopniu znacznie przewyższającym średnią prezentowaną w postępowaniach doktorskich.

Prezentacja ogólnej wiedzy teoretycznej przez Doktorantkę jest bardzo dobra.

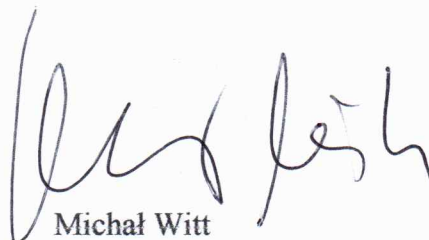
O umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej świadczy absolutnie logiczny i spójny tok prezentowanego myślenia badawczego, od postawienia ryzykownej na tym etapie hipotezy teoretycznej (publikacja 2), przez udowodnienie jej prawdziwości (publikacja 3), w końcu do jej praktycznego rozwinięcia (publikacja 4). We wszystkich przedstawionych publikacjach pani mgr Cyske jest pierwszą Autorką, a fakt ten dla naukowców nie wymaga dalszego tłumaczenia. W związku z tym nie mam wątpliwości, że **Doktorantka wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej w stopniu znakomitym**. Podnieść tu również trzeba, że pani mgr Cyske jest kierownikiem dwóch grantów uczelnianych, co dodatkowo wspiera moją ocenę w tym punkcie.

Pani mgr Cyske w trakcie swego projektu doktoranckiego, w sposób oryginalny, najpierw postawiła hipotezę badawczą, a potem ją udowodniła poprzez rozwiązanie niebanalnego problemu naukowego, którym był mechanizm akumulacji GAG w komórkach chorego na MPSPS. Mało tego, twórczo rozwinęła ten problem w kierunku praktycznym opracowując warunki zastosowania genisteiny i ambroksolu do przywrócenia prawidłowego transportu wewnątrzkomórkowego, co może stanowić punkt wyjścia do opracowania sposobu leczenia chorych na MPSPS. Boję się tylko jednego: tak genisteina, jak ambroksol, to substancje niedrogie, a firmy farmaceutyczne z zasady bardzo nie lubią tanich leków. Stwierdzam, że

rozprawa doktorska pani mgr Cyske stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego (publikacja 3) oraz oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej (publikacja 4).

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Zuzanny Cyske spełnia warunki określone przepisami Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668). W związku z powyższym **wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr Zuzanny Cyske do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Ze względu na: 1. bardzo wysoką oryginalność badań; 2. modelowe wręcz przeprowadzenie naukowej narracji od wiedzy ogólnej, przez jej zawężenie do konkretnej choroby wraz z postawieniem hipotezy co do jej patomechanizmu, udowodnienie słuszności i dalsze rozwinięcie hipotezy, do zaproponowania i szerokiego rozpracowania potencjalnego toku terapeutycznego; 3. wysoką publikowalność wyników swych badań oraz przemyśleń; w przekonaniu, że rozprawa doktorska mgr Zuzanny Cyske spełnia stosowne warunki ujęte w Regulaminie Dyscypliny Nauki biologiczne UG **wnoszę o jej wyróżnienie.**



Michał Witt

Poznań, dnia 28 listopada 2025 roku