

mpf. 28.05.2019 l. - c

Poznań, 26.05.2019

Prof. dr hab. Jadwiga
Jaruzelska
ul. Strzeszyńska 32
60-479 Poznań

tel. +48/61/657 91 00
fax +48/61/823 32 35
e-mail:
jadwiga.jaruzelska@igcz.poznan.pl

www.igcz.poznan.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej

pt. "Indukcja autofagii jako mechanizm działania genisteiny w eksperymentalnej terapii chorób neurodegeneracyjnych"

Dla: Rady Naukowej Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego

Doktorantka: Pani mgr Karolina Pierzynowska

Choroby neurodegeneracyjne prowadzące do stopniowej utraty komórek nerwowych są niezwykle częste i bardzo zróżnicowane pod względem typów oraz etiologii. Problem ten pogłębia się w związku ze starzeniem się społeczeństw. Przyczyną większości tych chorób jest gromadzenie się wielocząsteczkowych agregatów w komórkach nerwowych, co skutkuje poważnymi konsekwencjami neurologicznymi u pacjenta. Z tych powodów prace nad wynalezieniem skutecznych terapii trudno przecenić, szczególnie wobec braku sukcesów w tej dziedzinie. Skuteczny lek to taki który pokonywałby barierę krew-mózg a oprócz efektów leczniczych, polegających na usuwaniu szkodliwych agregatów, nie powodowałby efektów ubocznych. Jednym z podejść nad którymi pracują obecnie wyspecjalizowane laboratoria jest stymulowanie autofagii, która likwidowałaby lub znacznie zmniejszała patologiczne agregaty. Przedłożona doktorska rozprawa Pani mgr Karoliny Pierzynowskiej reprezentuje ten nurt badań i skupia się na skuteczności oraz mechanizmie działania flawonoidu o nazwie genisteina, w usuwaniu agregatów

białkowych w wybranych chorobach neurodegeneracyjnych. Praca nad tym związkiem stanowi kontynuację bardzo cennych badań laboratorium prof. Grzegorza Węgrzyna, które dotyczyły wykorzystania genisteiny w leczeniu mukopolisacharydozy. Już wówczas ustalono, że genisteina przekracza barierę krew-mózg oraz nie generuje efektów ubocznych. Ustalono również, że związek ten powoduje aktywację czynnika biogenezy lizosomów stanowiących kluczowe ogniwo autofagii. Rozprawa rozpoczyna się kilkustronicowym streszczeniem w języku polskim oraz angielskim zaopatrzonym w odpowiednią bibliografię. Po nim następują cztery artykuły, przy czym Doktorantka jest pierwszym autorem każdego z nich. Rozprawa rozpoczyna się bardzo logicznie od artykułu przeglądowego, który znakomicie wprowadza w zagadnienie autofagii oraz znaczenie badań nad nią, w kontekście prób opracowania terapii chorób neurodegeneracyjnych. Po niej następują trzy artykuły oryginalne ułożone w bardzo logicznym porządku.

W pierwszym z nich Pani Pierzynowska analizowała wpływ genisteiny na zmniejszenie nierozpuszczalnych agregatów zmutowanej huntingtyny. Praprzyczyną powstawania agregatów jest ekspansja kodonów glutaminowych w kodującym ją genie, w komórkach nerwowych pacjentów cierpiących na chorobę Huntingtona. Doktorantka ów wpływ analizowała z zastosowaniem sztucznego modelu opartego o komórki HEK293 z ektopową ekspresją allelu typu zmutowanego, wobec allelu dzikiego, który umożliwia odrębną analizę białka dzikiego i zmutowanego. Zastosowanie tego modelu w pełni uzasadniła. Pokazała bezpośredni wpływ genisteiny na zwiększenie procesu autofagii w tych komórkach. Nasuwa się pytanie dlaczego genisteina powoduje nie tylko obniżenie agregatów zmutowanej huntingtyny lecz również zmutowanego białka w formie rozpuszczalnej, bowiem Autorka nie dyskutuje tej kwestii. Czyżby nieco większa długość zmutowanego białka wobec dzikiego była ku temu wystarczającym sygnałem? Chciałabym usłyszeć pogląd Autorki na ten temat w trakcie obrony rozprawy.

Bardzo interesującą kontynuację rozprawy stanowiły badania przeprowadzone w komórkach fibroblastów pacjentów obarczonych chorobą Huntingtona, w porównaniu z fibroblastami osób zdrowych. Autorka opisała je w drugim artykule oryginalnym. Godnym pogratulowania jest uzyskanie efektu całkowitego zaniku agregatów pod wpływem genisteiny. Jednak pewną słabością tych badań, którą podnosi sama doktorantka, jest niemożność immunologicznego rozróżnienia huntingtyny prawidłowej

od zmutowanej na skutek niewystarczającej różnicy masy. Stąd nie wiadomo, czy i w tych komórkach dochodzi do obniżenia poziomu rozpuszczalnej formy nieprawidłowego białka. Jako osoba spoza grona naukowców zajmujących się tym zagadnieniem, zastanawiam się dlaczego zaburzenie homeostazy na skutek gromadzących się agregatów następuje w komórkach nerwowych, skoro agregaty są obecne również w innych tkankach, czego przykładem są fibroblasty pacjentów? Ponadto, do objawów patologicznych pacjentów z pewnością przyczyniają się również opisane przez innych autorów nieprawidłowości spowodowane obecnością samego patologicznego mRNA huntingtyny, który zawiera powtórzenia tripletów glutaminowych.

W trzecim artykule oryginalnym opisującym badania nad wpływem genisteiny na zmniejszenie patologicznych agregatów, Pani mgr Pierzynowska skoncentrowała się na modelu zwierzęcym, jednak tym razem dotyczącym choroby Alzheimera. Wprawdzie to zaburzenie należy do chorób neurodegeneracyjnych, jednak ma inną naturę na poziomie molekularnym niż choroba Huntingtona. Polega mianowicie na gromadzeniu się płytek tzw. β -amyloidu oraz silnie fosforylowanej formy białka tau, jednak przyczyny ich pojawiania się nie są wystarczająco poznane. Potencjalny efekt terapeutyczny genisteiny na tę chorobę w kontekście wpływu na autofagię nie był dotąd opisany. Autorka zastosowała bardzo ciekawy model szczura choroby Alzheimera z indukowanym chemicznie gromadzeniem β -amyloidu oraz silnie fosforylowanej formy białka tau. Przeprowadzone badania zostały uwieńczone sukcesem ponieważ pokazały obniżenie poziomu obu tych nieprawidłowych struktur pod wpływem genisteiny, działającej poprzez stymulację autofagii. Bardzo istotnym osiągnięciem w tej części badań było doprowadzenie do zmniejszenia objawów choroby u szczurów, jak polepszenie pamięci, która była porównywalna do szczurów kontrolnych. W artykule zwracają uwagę bardzo liczne analizy statystyczne które zostały szczegółowo przedstawione w bogatym materiale dodatkowym.

Wniosek końcowy

Rozprawę przeczytałam z dużym zainteresowaniem. Uważam ją za bardzo wartościową i wnoszącą ważne dane do dziedziny której dotyczy. Na uwagę zasługuje długa lista oryginalnych artykułów, poza stanowiącymi przedmiot rozprawy, których Pani mgr

Pierzynowska jest współautorką jak również lista doniesień prezentowanych w formie ustnej na licznych konferencjach, w tym o zasięgu międzynarodowym. Do osiągnięć należy również kilka nagród których Pani mgr Pierzynowska jest laureatką, kierowanie grantem Preludium oraz wykonawstwo w innych projektach badawczych. Rozprawa z pewnością spełnia formalne warunki stawiane rozprawom doktorskim. Z tych powodów z pełnym przekonaniem wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Pierzynowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

