

UNIwersYTET GDAŃSKI



Prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn
Katedra Biologii Molekularnej
Wydział Biologii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 59
80-308 Gdańsk

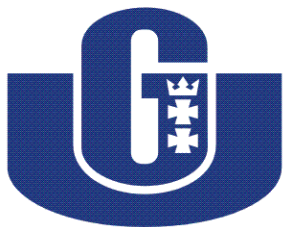
Tel. (58) 523 6024 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 6025 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 5501 (Kierownik Katedry)
e-mail: joanna.bart@biol.ug.edu.pl (Sekretariat)
e-mail: grzegorz.wegrzyn@biol.ug.edu.pl (Kierownik Katedry)
www.biology.ug.edu.pl/kbm

Gdańsk, 2 maja 2021 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej
Pani mgr Julity Pietrzak
pt. „Oddziaływanie PARP1 z chromatyną
jako mechanizm regulujący nabywanie tolerancji
na bakteryjną endotoksynę przez ludzkie monocyty i makrofagi”**

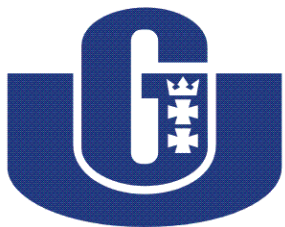
Powstawanie posocznicy (sepsy) w wyniku zakażenia bakteryjnego krwi oraz nieadekwatnej odpowiedzi immunologicznej zakażonego organizmu jest z jednej strony dużym problemem medycznym, a z drugiej wyzwaniem dla badaczy zajmujących się biologią procesów patogenezy, starających się poznać molekularne mechanizmy różnych chorób. Prace prowadzone w tym zakresie mogą nie tylko doprowadzić do lepszego poznania regulacji różnych procesów zachodzących w komórkach i organizmach, ale także być inspiracją do poszukiwań nowych leków, mogących skutecznie zwalczać poszczególne stany chorobowe.

Badania Pani mgr Julity Pietrzak, opisane w przedstawionej mi do recenzji rozprawie doktorskiej, skupiły się na problemie nabywania tolerancji przez ludzkie monocyty i makrofagi na bakteryjną endotoksynę. Jako cel pracy Doktorantka postawiła sobie określenie udziału białka PARP1 oraz procesu poli-ADP-rybozylacji w rozwoju immunotolerancji, która jest jedną z głównych przyczyn sepsy w wyniku nieadekwatnej odpowiedzi organizmu gospodarza na zakażenie bakteryjne. Cel ten należy uznać za ważny naukowo i warty realizacji w ramach pracy doktorskiej.

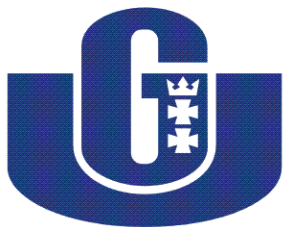


Rozprawa doktorska Pani mgr Julity Pietrzak przedstawiona została w postaci zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, co spełnia wymagania określone w art. 187 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z dnia 30 sierpnia 2018 r., poz. 1668, z późniejszymi zmianami). Zbiór ten składa się z czterech artykułów, jednego przeglądowego i trzech oryginalnych, które ukazały się w renomowanych międzynarodowych czasopismach naukowych: *Redox Biology*, *Biochimica et Biophysica Acta – Gene Regulatory Mechanisms*, *Cancers* oraz *Pharmaceuticals*. Niestety do rozprawy nie dołączono danych dodatkowych (ang. *Supplementary Materials*), które przecież są integralną częścią artykułów, a które zostały zamieszczone w przypadku wszystkich trzech prac eksperymentalnych wchodzących w skład ocenianej rozprawy doktorskiej. Co prawda dane te są dostępne w Internecie, niemniej jednak ich poszukiwanie i ściąganie z sieci, zamiast dostępności w samym dziele naukowym, nie ułatwia ani pracy recenzentowi ani analizowania rozprawy potencjalnemu czytelnikowi.

W trzech z wyżej wspomnianych publikacjach Pani mgr Julita Pietrzak jest pierwszą autorką na liście współautorów, a w jednej drugą autorką. Sugeruje to bądź, odpowiednio, wiodącą bądź istotną rolę Doktorantki w powstaniu tych artykułów. Kluczowy udział doktorantki w pracach składających się na ocenianą rozprawę powinien być potwierdzony treścią oświadczeń wszystkich współautorów. Niestety, o ile wszystkie te oświadczenia są formalnie poprawne, gdyż zawierają deklaracje poszczególnych osób co do ich udziału, to merytorycznie są one co najmniej zbyt powierzchowne, jeśli nie wątpliwe w niektórych przypadkach. Zagadnieniu temu poświęcę nieco miejsca, gdyż może być to wskazówką dla Doktorantki na unikanie podobnych błędów w przyszłości. Już w oświadczeniach samej Pani mgr Julity Pietrzak, o ile opis Jej udziału w przygotowaniu pracy przeglądowej jest klarowny i wyczerpujący, to w przypadku wszystkich artykułów oryginalnych, opisy są bardzo podobne i ograniczają się do stwierdzenia: „mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wykonaniu części doświadczeń, częściowej analizie i interpretacji wyników oraz w przygotowaniu manuskryptu”. Opis ten jest zbyt ogólny. Aby recenzent mógł adekwatnie ocenić udział Doktorantki w wieloautorskich artykułach składających się na rozprawę doktorską, konieczne jest precyzyjne wskazanie Jej wkładu. Tylko wtedy możliwe jest stwierdzenie, czy Doktorantka potrafiła samodzielnie rozwiązać problem naukowy, co jest jednym z ustawowych kryteriów decydujących o możliwości nadania stopnia doktora.



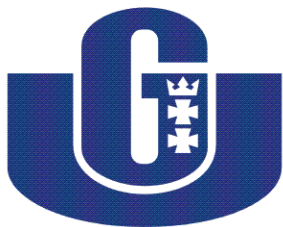
Czytając oświadczenie Pani mgr Julity Pietrzak nasuwają się kluczowe pytania: (1) Które doświadczenia wykonała (opis: „wykonaniu części doświadczeń” niewiele w tym względzie mówi; recenzent nie jest w stanie stwierdzić czy były to niemal wszystkie doświadczenia czy tylko nieliczne)? (2) Jakie konkretne analizy wykonała Doktorantka i interpretacji których wyników one dotyczyły (opis: „częściowej analizie i interpretacji wyników” nie wskazuje czy były to niemal wszystkie analizy czy nieliczne)? (3) Jaki był konkretny wkład Doktorantki w przygotowanie manuskryptu (czy było to przygotowanie konkretnych rozdziałów, czy fragmentów poszczególnych rozdziałów – a jeśli tak, to których)? Niestety moje wątpliwości pogłębiły się po lekturze oświadczenia Pani dr hab. Agnieszki Robaszkiewicz, prof. UŁ – promotora tej rozprawy doktorskiej. W przypadku wszystkich artykułów oryginalnych, Pani promotor oświadcza, że Jej wkład polegał m.in. na „przeprowadzeniu eksperymentów i opracowaniu danych, (...), przygotowaniu i wysłaniu manuskryptu”. Odczytując literalnie to oświadczenie należałoby uznać, iż zdaniem Pani promotor, wykonała ona sama wszystkie eksperymenty i opracowała wszystkie dane, a także jako jedyna przygotowała manuskrypt. Kłóci to się jednak z oświadczeniem Doktorantki, że to Ona wykonała część doświadczeń oraz część analiz danych. Niewielką pomocą są tutaj (i nie tylko tutaj, ale także w przypadku każdej pracy naukowej) przedstawione procentowe udziały poszczególnych autorów, gdyż nie istnieje dostępna metodologia pozwalająca w sposób jednoznaczny i niepodważalny określić procentowy wkład współautorów w powstanie dzieła naukowego. Moje rozczarowanie treścią oświadczeń pogłębiło się po przeczytaniu pism podpisanych przez niektórych kolejnych współautorów. Dla przykładu, Pani Karolina Gronkowska pisze, że wykonała część doświadczeń, ale swój udział w pracy szacuje na 1%. Mimo iż uważam, że wskazywanie udziału procentowego autorów w pracy naukowej nie ma sensu, to podawanie aż tak nikłego udziału skłania do wątpliwości czy w takim razie osoba pisząca takie oświadczenie w ogóle powinna być współautorem publikacji. Oświadczenie to dotyczy pracy opublikowanej w *Pharmaceuticals* i pozostawiam bez odpowiedzi pytanie jakie to doświadczenia były według autorki tak mało ważne aby uznać iż stanowiły one tylko 1/100 pracy? Gdyby w oświadczeniu wskazane były konkretne doświadczenia wykonane przez Panią Karolinę Gronkowską, takie niejasności byłyby od razu rozwiane. Niestety pozostali autorzy biorący udział w badaniach eksperymentalnych byli tak samo mało precyzyjni w opisie własnych udziałów.



Z kolej zadziwiły mnie oświadczenia Prof. Corrine M. Spickett oraz Prof. Laszlo Virag, w których czytamy, że ich udziały polegały – odpowiednio – na korekcie redakcyjnej i językowej („*manuscript proofreading and language correction*”) oraz na korekcie redakcyjnej („*manuscript proofreading*”). Nie tylko w mojej osobistej opinii, ale w postanowieniach większości renomowanych wydawnictw naukowych, korekta językowa i redakcyjna manuskryptu nie jest wystarczającym udziałem do zaliczenia przeprowadzających je osób do składu współautorów artykułu naukowego. Autorem takim powinna być bowiem osoba mająca istotny merytoryczny udział w tworzeniu koncepcji badań, stawianiu hipotez badawczych, przeprowadzaniu badań, analizach wyników, wyciąganiu wniosków lub pisaniu artykułu (a nie tylko technicznej korekcie tekstu). Jeśli te oświadczenia oddają zatem w pełni ich udział w powstawaniu pracy opublikowanej w *Redox Biology*, to zarówno Prof. Corrine M. Spickett jak i Prof. Laszlo Virag nie powinni być współautorami tego artykułu, a ich nazwiska mogłyby być ujęte w podziękowaniach (sekcja *Acknowledgments*).

Stając zatem przed trudnym zadaniem oszacowania roli Pani mgr Julity Pietrzak w powstaniu prac składających się na Jej rozprawę doktorską, w obliczu nieprecyzyjnych oświadczeń współautorów, musiałem uznać zwyczajową zasadę, że wkład pierwszego na liście autora jest dominujący w wykonanie badań. Przyjmując taką regułę, biorąc pod uwagę fakt, że Pani mgr Julita Pietrzak jest pierwszą autorką w trzech z czterech artykułów składających się na Jej rozprawę doktorską, uznaję iż spełniony został ustawowy wymóg samodzielnego rozwiązania problemu naukowego.

Powyższe twierdzenie jest silnie podbudowane faktem, że przedstawione w rozprawie doktorskiej Pani mgr Julity Pietrzak wyniki są bardzo ciekawe, uzyskane przy wykorzystaniu nowoczesnych metod badawczych i wnoszą istotne informacje poszerzające naszą wiedzę o roli białka PARP1 oraz procesu poli-ADP-rybozylacji w rozwoju immunotolerancji ludzkich monocytów i makrofagów na bakteryjną endotoksynę. Użycie zaawansowanych technik biologii molekularnej, biochemii i biologii komórki pozwoliło na weryfikację postawionych hipotez oraz wyciągnięcie ważnych wniosków, z których za kluczowe uważam: (1) powiązanie stanu proliferacji monocytów i makrofagów z występowaniem immunotolerancji modulowanej przez poziom białka PARP1, (2) stwierdzenie wpływu zmian epigenetycznych zależnych od białek EP300, HDAC i BRG1 na poziom ekspresji genu kodującego PARP1, co z kolei jest związane z regulacją cyklu komórkowego monocytów i makrofagów, (3)



wykrycie zależności odpowiedzi prozapalnej od hamowania funkcji PARP1, (4) określenie roli białek p50 i p65 w rozwoju immunotolerancji, (5) udowodnienie, że po stymulacji lipopolisacharydem, obniżony poziom PARP1 jest spowodowany modyfikacją promotora genu kodującego TNF α .

Obok zestawu artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych, rozprawa doktorska Pani mgr Julity Pietrzak opatrzona jest rozbudowanym streszczeniem w języku polskim i angielskim, co spełnia kolejny wymóg ustawy. W streszczeniu tym Doktorantka podsumowuje wyniki swoich badań na tle dostępnej literatury, powołując się jednocześnie na rezultaty badań własnych nie zamieszczone w wyżej wspomnianych artykułach. Jest to dopuszczalne w świetle przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z dnia 30 sierpnia 2018 r., poz. 1668, z późniejszymi zmianami). Omawiane streszczenie jest ogólnie ciekawie napisane, niestety Autorka nie uniknęła zarówno nieścisłości merytorycznych jak też gdzieś tam żargonu laboratoryjnego i drobnych błędów językowych. Podam poniżej kilka przykładów:

1. Na str. 7 czytamy, że „Sepsa, zwana posocznicą, jest stanem....”, a w kolejnym zdaniu: „Wywołana jest m.in. przez monocyty i makrofagi...”. Oczywiście sepsa wywołana jest zakażeniem bakteryjnym, natomiast zaburzenia funkcji monocytów i makrofagów przyczyniają się do jej powstania w wyniku nieadekwatnej odpowiedzi immunologicznej. Gdyby faktycznie sepsa była wywoływana przez monocyty i makrofagi, to życie wielu gatunków zwierząt, a także człowieka, byłoby niezwykle silnie zagrożone praktycznie od momentu narodzin. Można sobie wyobrazić, że gdyby tak było, to ewolucja powinna była przebiec innymi drogami niż to wynika z rezultatów badań paleontologicznych i molekularnych, z powodu szybkiego wymarcia ogromnej grupy zwierząt. Fakt, że jednak ludzie potrafią przeżyć kilkadziesiąt lat wskazuje, że koncepcja wywoływania sepsy przez monocyty i makrofagi jest jednak błędna.
2. Na str. 7, w linijce 10 czytamy: „w przypadku leczenia niektórych szczepów bakterii”. Nie wiem dlaczego Doktorantka sugeruje, że należy leczyć bakterie (faktycznie, bakterie mogą też chorować, na przykład po zakażeniu bakteriofagiem) a nie pacjentów? Czasami mówi się kolokwialnie o leczeniu chorób, ale z propozycją leczenia bakterii spotykam się pierwszy raz. Rozumiem, że filantropia jest szczytną ideą, ale ponieważ w tej części rozprawy doktorskiej mowa jest o bakteriach patogennych dla człowieka, ich leczenie a nie zwalczanie byłoby raczej przesadnym brakiem dbania o własne interesy przez ludzi na rzecz interesów chorobotwórczych mikroorganizmów.



3. W tekście kilkakrotnie powtórzony jest zwrot „ekspresja białka”. Mimo, że jest on (niestety) często używany nawet w specjalistycznej literaturze, należy pamiętać, że ekspresji ulegają geny, a białka, jako produkty ekspresji genów mogą być produkowane czy syntezywane, ale nie ekspymowane.
4. Na str. 12 Autorka pisze: „Aby potwierdzić hipotezę...”. Takie stawianie celu doświadczeń jest niepoprawne metodologicznie. Eksperymenty powinno się prowadzić w celu weryfikacji hipotezy, zbadania mechanizmu, określenia wpływu danych parametrów na badany proces itd., ale nie w celu potwierdzenia z góry założonego scenariusza.
5. Na Rys. 1 i 3, w wersji polskiej streszczenia, część podpisów jest w języku polskim a część w języku angielskim. Dla przykładu, „MONOCYTY” i „ZRÓŻNICOWANE TGPI” oraz „Fold change” na Rys. 1, a także „Ekspresja TNF α ” oraz „Enrichment over input” na Rys. 3. Właściwym byłoby ujednoczenie języka opisów.

W podsumowaniu mojej recenzji, mimo przedstawionych uwag krytycznych uważam, że rozprawa doktorska Pani mgr Julity Pietrzak spełnia wymagania określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z dnia 30 sierpnia 2018 r., poz. 1668, z późniejszymi zmianami). Doktorantka wykazała się wiedzą teoretyczną z zakresu prowadzonych przez siebie badań. Zakładając, że zgodnie z panującymi zwyczajami przyznawania pierwszego miejsca na liście autorów artykułów osobom mającym kluczowy wkład w ich powstanie, mogę stwierdzić, że Pani mgr Julita Pietrzak potrafi samodzielnie rozwiązać problem naukowy. W związku z powyższym, zwracam się do Wysokiej Komisji ds. Stopni Naukowych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie Pani mgr Julity Pietrzak do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn