

Dr hab. inż. Zbigniew Świder
Katedra Informatyki i Automatyki
Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza
al. Powstańców Warszawy 12
35-959 Rzeszów

Rzeszów, dn. 27.12.2022

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Tytuł rozprawy: Mathematical modelling in comparative analysis of methylation profiles of *de novo* and therapy-related AML
Autor rozprawy: mgr inż. Agnieszka Cecotka
Promotor rozprawy: prof. dr hab. inż. Joanna Polańska
Dziedzina: nauki inżynieryjno-techniczne
Dyscyplina: inżynieria biomedyczna

Niniejsza recenzja została przygotowana na zlecenie Rady Dyscypliny Inżynierii Biomedycznej Politechniki Śląskiej na podstawie uchwały z dnia 20 października 2022 r.

1. Cel i zakres rozprawy

Rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Cecotki dotyczy niezwykle istotnej i wciąż rozwijającej się dziedziny badań interdyscyplinarnych – zastosowań zaawansowanych metod matematycznych i narzędzi statystycznych do przetwarzania dużych zbiorów danych dotyczących metylacji DNA oraz badania profilu metylacji DNA u pacjentów z AML (ostrą białaczką szpikową). Klasyczne metody i modele statystyczne stosowane są w biomedycynie od dawna, ale rozwój wysokoprzepustowych technik eksperymentalnych umożliwia przetwarzania ogromnej ilości danych. Zwykle charakteryzuje je znaczna liczba mierzonych cech oraz niestandardowy rozkład statystyczny, co znacznie komplikuje ich zastosowanie i rodzi potrzebę poszukiwania coraz to nowych algorytmów i sekwencji metod do ich przetwarzania. W biomedycynie techniki wysokoprzepustowe stosowane są m.in. do mierzenia metylacji DNA jako modyfikacji epigenetycznej kluczowej dla kontroli ekspresji genów oraz rozwoju raka, gdyż zmiany metylacji DNA w ostrej białaczce szpikowej (AML) mogą prowadzić do różnic w odpowiedzi na leczenie i czasie przeżycia między pacjentami z samoistną białaczką, jak i z białaczką spowodowaną terapią innego nowotworu.

W pracy postawiono dwie główne tezy:

1. Połączenie metod opartych na modelowaniu matematycznym, porównawczych analizach statystycznych oraz integracji ich wyników, w zastosowaniach do analizy danych dotyczących metylacji DNA, umożliwia efektywne wykrycie różnic w poziomach metylacji DNA w regionach genomu pomiędzy badanymi grupami pacjentów.
2. Integracja wyników uzyskanych przy użyciu różnych platform eksperymentalnych prowadzi do uzyskania zweryfikowanych wyników, które są mniej podatne na błędy.

Wiążą się one z kilkoma postawionymi celami badawczymi, takimi jak:

1. Opracowanie efektywnych schematów do przetwarzania danych dla metylacji DNA.
2. Zbadanie profilu metylacji DNA u pacjentów z AML na podstawie rzeczywistych danych.
3. Zaproponowanie jednolitego podejścia, począwszy od wstępnego przetwarzania danych, poprzez analizę statystyczną i modelowanie matematyczne, aż do analizy funkcjonalnej wykrytych cech i walidacji wyników na różnych platformach eksperymentalnych.

W pracy dominuje wątek eksperymentalny związany z badaniami ogólnego profilu metylacji DNA w AML, jak również wykrywaniu różnic między płciami w poziomach metylacji DNA i czynnikach przeżycia u pacjentów z AML. W tym kontekście należy pozytywnie ocenić zarówno wybór tematyki rozprawy, jak i metod pozwalających na zrealizowanie postawionych celów badawczych. Rozpatrywane problemy stanowią bez wątpienia istotne wyzwanie teoretyczne i metodologiczne, jak również uzyskane wyniki są niezwykle przydatne w biomedycynie przy badaniach nad AML.

2. Struktura i zawartość rozprawy

Recenzowana praca doktorska obejmuje formalnie 3 główne rozdziały, poprzedzone wstępem oraz zakończone podsumowaniem. Zasadnicza część rozprawy liczy łącznie 97 stron oraz dodatkowo zawiera bibliografię liczącą 157 pozycji.

Praca rozpoczyna się wstępem, w którym przedstawiono motywację, cele rozprawy oraz zawartość poszczególnych części rozprawy. W rozdziale drugim (zatytułowanym „*Background*”) dokonano wprowadzenia do zagadnień metylacji DNA, przedstawiono rolę procesów epigenetycznych i czynniki modyfikujące, opisano czym jest AML (ostra białaczka szpikowa) oraz metylacja DNA. Następnie opisano popularne techniki pomiarowe metylacji DNA, w tym wykorzystanie macierzy metylacji.

W rozdziale trzecim (zatytułowanym „*Materials and Methods*”) przedstawiono profile metylacji z wykorzystaniem publicznego repozytorium (*GEO database*) i wykonano analizę statystyczną danych. Zwrócono uwagę na zmiany metylacji DNA dla pacjentów z samoistną białaczką oraz z białaczką będącą skutkiem ubocznym leczenia innego nowotworu.

W rozdziale czwartym (zatytułowanym „*Results*”) przedstawiono wyniki badań eksperymentalnych, a w szczególności otrzymane profile metylacji DNA i ich obróbkę statystyczną, różnice w wynikach w zależności od płci pacjenta jak również odchylenia w metylacji dla pacjentów z samoistną białaczką oraz będącą skutkiem leczenia innego nowotworu. Na koniec dokonano integracji i interpretacji otrzymanych wyników.

W podsumowaniu jeszcze raz omówiono proponowany algorytm poszukiwania profilu metylacji DNA w ostrej białaczce szpikowej, porównano otrzymane wyniki dla pacjentów różnych płci oraz opisano metodę wykrywania aberracji metylacji DNA u pacjentów z białaczką pochodzącą z różnych źródeł.

3. Najważniejsze osiągnięcia rozprawy

Biorąc pod uwagę zawartość pracy oraz pozytywną ocenę jej zawartości merytorycznej, za główne osiągnięcia Autorki, będące jednocześnie elementami rozprawy decydującymi o jej wartości naukowej i badawczej, należy uznać:

1. Opracowanie i zaimplementowanie oryginalnego algorytmu poszukiwania profilu metylacji DNA dla ostrej białaczki szpikowej z wykorzystaniem mikromacierzy metylacyjnych.
2. Metodę wykrywania różnic między płciami w poziomach metylacji DNA i czynnikach przeżycia u pacjentów z AML – z wykorzystaniem integracji wyników uzyskanych w analizie porównawczej i analizie przeżycia.

3. Metodykę wykrywania aberracji metylacji DNA u pacjentów z białaczką samoistną lub związaną z chemio- lub radioterapią – z wykorzystaniem nadzorowanej i nienadzorowanej selekcji cech w przestrzeni epigenetycznej i analizy funkcjonalnej.
4. Wykrycie biomarkerów AML spowodowanej terapią i potwierdzonych w niezależnym eksperymencie za pomocą pirosekwencjonowania.

Należy zauważyć, że Autorka podjęła się realizacji bardzo ciekawego oraz niezwykle istotnego z punktu widzenia praktycznych zastosowań tematu badawczego. Poszczególne wyniki badań Autorki zostały opublikowane w kilkunastu pracach (głównie w języku angielskim), w tym wysoko punktowanych. Prowadzona aktywność publikacyjna oraz szeroki zakres tematycznych zagadnień w nich poruszanych świadczy bardzo pozytywnie o dużej wiedzy Autorki rozprawy w zakresie poruszanej tematyki badawczej, popartej również dużym doświadczeniem praktycznym.

4. Poprawność pracy i uwagi krytyczne

Poprawność treści rozprawy nie wzbudza zastrzeżeń, a stwierdzenia w niej zawarte są godne zaufania, co wynika w szczególności z przedstawionych podstaw teoretycznych popartych szczegółowymi wynikami przeprowadzonych badań eksperymentalnych.

Jednocześnie Autorka nie ustrzegła się pewnych drobnych niedociągnięć, a wśród uwag o charakterze krytycznym, a po trosze i dyskusyjnym, można wymienić:

1. W tytule jest „*Mathematical modeling...*” – zatem dobrze byłoby podać w pracy proponowany lub rozpatrywany model matematyczny (wzór, rysunek, diagram, ...) w sposób bezpośredni – z jakich względów nie został on zamieszczony w rozprawie?
2. Interesującym byłoby podanie bardziej szczegółowych wniosków wynikających z wykonanych badań i otrzymanych wyników zamieszczonych w tabelach i na rysunkach. Czy wykonanie tych badań za pomocą innych metod opisywanych w literaturze dałoby takie same (lub bardzo zbliżone) wyniki? Gdzie jest przewaga proponowanego podejścia?
3. Czy wykonanie przeprowadzonych badań na innej bazie danych pozwoliłoby wyciągnąć podobne wnioski, czy jest to jedynie specyfika wykorzystywanej w pracy bazy danych?
4. W pracy nie zamieszczono szczegółów dotyczących zastosowanego oprogramowania wykorzystanego do realizacji badań – czy było to oprogramowanie autorskie, czy też standardowy (komercyjny) pakiet do obliczeń matematycznych w biomedycynie? Czy otrzymane rezultaty zostały zweryfikowane z wykorzystaniem innych narzędzi obliczeniowych (ten sam algorytm, ale inna platforma sprzętowo-programowa)?

Drobne uwagi szczegółowe:

- W całej pracy brak numeracji wzorów w tekście, co utrudnia analizę rozprawy.
- Str. 31 – We wzorze $M = \beta / (1 - \beta)$ dla β z zakresu $[0, 1]$ wartości M będą z przedziału $[0, \infty)$, a nie jak napisano z przedziału $(-\infty, +\infty)$.
- Str. 35 – We wzorze $s = \dots$ w mianowniku powinno być $n_1 + n_2 - 2$ (a nie $n_1 + n_1 - 2$).
- Str. 46, 58, 61, 68, 74, 93 – Rysunki wychodzą poza marginesy strony (są za duże).
- Str. 41, 59, 67, 69, 73, 77, 78, 81, 86, 91 – Tabele wychodzą poza marginesy strony (są za duże).

5. Podsumowanie

Przytoczone wyżej uwagi dyskusyjne nie umniejszają zasług Autorki ani nie kwestionują przedstawionych osiągnięć, a przedstawiona w pracy problematyka dotyczy aktualnych i interesujących zagadnień naukowych. Recenzowana praca zasługuje na wysoką ocenę

merytoryczną i wnosi istotny oraz oryginalny wkład w dyscyplinie nauk biomedycznych. Postawione cele i zadania pracy zostały w pełni zrealizowane, a jej tematyka dobrze wpisuje się we współczesny nurt badań w tym zakresie.

Syntetyczna o cenie rozprawy:

- A. Czy rozprawa zawiera oryginalne rozwiązanie problemu naukowego? Zdecydowanie TAK
- B. Czy kandydatka posiada ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie? Zdecydowanie TAK
- C. Czy posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej? Zdecydowanie TAK

Stwierdzam zatem z pełnym przekonaniem, że opiniowana rozprawa Pani mgr inż. Agnieszki Cecotki pt. „Mathematical modelling in comparative analysis of methylation profiles of *de novo* and therapy-related AML” zawiera samodzielne rozwiązanie ważnego i istotnego problemu naukowego, jednocześnie **spełniając wszystkie wymagania przewidziane dla rozpraw doktorskich** w aktualnie obowiązującej Ustawie o Tytule Naukowym i Stopniach Naukowych. W związku z tym stawiam wniosek o dopuszczenie Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. inż. Zbigniew Świder