



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Matematyki, Informatyki i Mechaniki
Instytut Matematyki Stosowanej i Mechaniki

prof. dr hab. Urszula Forys
kierownik Zakładu Biomatematyki i Teorii Gier
Instytut Matematyki Stosowanej i Mechaniki
Wydział Matematyki, Informatyki i Mechaniki
Uniwersytetu Warszawskiego
Banacha 2, 02-097 Warszawa

Święcice, 12.10.2024

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Tytuł rozprawy: Zmiany epigenetyczne w żywych komórkach — modelowanie procesu metylacji DNA

Autor rozprawy: mgr inż. Karolina Kurasz

Promotor rozprawy: prof. dr hab. inż. Krzysztof Fajarewicz

Recenzja została sporządzona w związku z powołaniem mnie przez Radę Dyscypliny Naukowej Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej w dniu 19.09.2024 roku do pełnienia funkcji recenzenta w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie *Inżynieria Biomedyczna* pani mgr inż. Karoliny Kurasz. Celem recenzji jest ocena spełnienia przez rozprawę doktorską mgr inż. Karoliny Kurasz warunków określonych w art. 13. ust. 1. Ustawy o stopniach i tytule naukowym.

Rozprawa doktorska „Zmiany epigenetyczne w żywych komórkach — modelowanie procesu metylacji DNA” dotyczy matematycznego modelowania metylacji/demetylacji DNA i – jak wskazuje tytuł – wiąże się ze zmianami epigenetycznymi pojawiającymi się w żywych komórkach. Wyniki zamieszczone w rozprawie zostały zaprezentowane w następujących publikacjach naukowych:

- K. Kurasz, J. Rzeszowska-Wolny, R. Oliński, M. Foksiński, K. Fajarewicz, „The Role of Different TET Proteins in Cytosine Demethylation Revealed by Mathematical Modeling”, *Epigenomes* 2024, 8, 18;
- F. Krzysztof, K. Karolina, „Cytosine methylation and demethylation model — equilibrium point and the influence of enzymes on cytosine forms levels”, zaakceptowane do *SN Computer Science*, 2024;
- K. Kurasz, D. Hudy, M. Skonieczna, E. Zarakowska, K. Fajarewicz, J. Rzeszowska-Wolny, „MODELING CYTOSINE METHYLATION AND DEMETHYLATION”, in *Proceeding of the XXIII National Conference on Mathematics Applied in Biology and Medicine*, Jugowice, 2017, s. 109–116.

1. Tematyka rozprawy doktorskiej

Tematyka rozprawy doktorskiej została częściowo uwidoczniiona w tytule tej rozprawy. Autorka podjęła się próby matematycznego opisu procesu metylacji DNA wraz z towarzyszącym mu procesem demetylacji. Procesy te są ważne w kontekście zmian epigenetycznych w komórkach, które towarzyszą np. zmianom nowotworowym. W związku z tym uważam, że podjęta tematyka jest zarówno ważna jak i aktualna, a przeprowadzone badania wnoszą istotny wkład w dyscyplinę *Inżynieria Biomedyczna*.

2. Teza i cele badawcze

Niestety, choć rozprawa doktorska dotyczy konkretnych badań z zastosowaniem modelu matematycznego i w takim przypadku istotne wydaje się postawienie konkretnej hipotezy badawczej na początku pracy oraz konsekwentne dążenie do jej zweryfikowania w poszczególnych rozdziałach, to Autorka takiej hipotezy nie postawiła. Być może dlatego, że wyniki modelowania matematycznego okazały się dalekie od doskonałości i w rzeczywistości trudno wysnuć na ich podstawie ostateczne wnioski. W zamian postawione zostały dwa cele badawcze, która Autorka sformułowała na początku pracy, a które w skrócie przedstawiają się w następujący sposób:

- Zbudowanie modelu matematycznego w oparciu o dane empiryczne pochodzące z eksperymentów biologicznych.
- Dobór struktury modelu, a na jej podstawie wyjaśnienie udziału białek TET w procesie demetylacji.

Wskazane cele badawcze uwidoczniiono także w tytułach rozdziałów z numerami 4 i 5. W związku z tym wydaje mi się, że do wymienionych wyżej celów należałoby dodać także cel rozdziału 6, w którym Autorka zbadała wpływ zmian poziomów enzymów TET na wyniki modelowania.

Głównym celem badawczym rozdziału 4 pt. „Model matematyczny” było zaproponowanie modelu matematycznego omawianego procesu metylacji/demetylacji, zbadanie własności tego modelu i jego walidacja.

Głównym celem badawczym rozdziału 5 pt. „Dobór struktury modelu” było wyselekcjonowanie takiej wersji modelu w kontekście działania białek TET, by jak najlepiej odzwierciedlić dane eksperymentalne.

Głównym celem badawczym rozdziału 6 pt. „Wpływ zmiany poziomu enzymów TET na odpowiedź modelu” było opisanie, w jaki sposób zmienia się wynik modelowania w zależności od zmian poziomów białek TET dla pełnego modelu oraz wersji modelu wybranej jako najlepsza w poprzednim rozdziale.

W mojej ocenie postawione cele badawcze są ważne, nietrywialne, a użyta metodologia właściwa i aktualna, tym samym więc spełniają wymagania stawiane przed pracami doktorskimi.

3. Organizacja i strona redakcyjna rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska liczy łącznie 78 stron, prócz stron tytułowych, spisów treści, tabel, rysunków, wybranych symboli i oznaczeń oraz streszczeń (dodatkowe 25 stron) i została podzielona na 7 rozdziałów (wraz z celem pracy, wstępem i podsumowaniem). Dodatkowo w pracy zawarto bibliografię, która liczy 52 pozycje. Na koniec Autorka dołączyła publikacje stanowiące podstawę zasadniczych rozdziałów pracy doktorskiej.

W rozdziale 1, zatytułowanym „Cel pracy”, autorka zaproponowała dwa cele badawcze, o których była już wyżej mowa.

Rozdział 2, zatytułowany „Wstęp”, zawiera z jednej strony rozważania dotyczące istotności modelowania matematycznego w naukach przyrodniczych, z drugiej – wstępne informacje na temat roli DNA.

Rozdział 3 pt. „Epigenetyczne modyfikacje DNA” zawiera nakreślenie właściwej tematyki rozprawy, w szczególności omawiane są podstawy biologiczne (podrozdziały 3.1 oraz 3.2), a następnie dane eksperymentalne, które posłużyły do budowy modelu matematycznego (podrozdział 3.3).

Rozdział 4, „Model matematyczny”, składa się ze wstępu dotyczącego typów modeli matematycznych oraz pięciu podrozdziałów. Pierwszy przedstawia heurystyczny opis modelu, który następnie został ujęty w matematyczną strukturę układu 6 równań różniczkowych zwyczajnych, oddzielnego dla każdej z pięciu linii komórkowych opisanych w eksperymentach. Następnie układ został zapisany w postaci macierzowej, wyznaczony został stan stacjonarny i zbadana jego stabilność. W podrozdziale 4.2 zaproponowano zablokowanie wszystkich układów w celu estymacji parametrów z zastosowaniem metody najmniejszych kwadratów z nieujemnymi ograniczeniami. W kolejnym podrozdziale przeprowadzona została walidacja modelu z użyciem kwadratowego wskaźnika jakości, a następnie w podrozdziale 4.4 zaprezentowane zostały wykresy z wynikami modelowania, a całość podsumowano w podrozdziale 4.5.

W rozdziale 5, „Dobór struktury modelu”, mamy cztery podrozdziały. W pierwszym z nich dokonano selekcji wersji modelu najlepiej odzwierciedlających dane eksperymentalne. Podrozdział 5.2 to krótkie wnioski z tej doboru, zaś w 5.3 przedstawiono wyniki symulacji dla 10 najlepszych struktur. Całość kończy podrozdział 5.4 z wnioskami z symulacji.

Rozdział 6, „Wpływ zmiany poziomu enzymów TET na odpowiedź modelu”, to rozdział zawierający wyniki uzupełniające w stosunku do tych, które zostały do tej pory opublikowane. Składa się z trzech podrozdziałów. W pierwszym przeprowadzono symulacje pełnego układu dla różnych poziomów białek TET. W drugim mamy te same symulacje dla najlepszej struktury, a ostatni podrozdział zawiera wnioski z tych symulacji.

Rozdział 7, zatytułowany „Podsumowanie”, jak wskazuje tytuł – zawiera krótkie podsumowanie otrzymanych w rozprawie wyników.

Rozprawa została w przygotowana po polsku, jednak zawiera „Summary”, czyli streszczenie po angielsku. Od strony edytorskiej mam sporo uwag. Po pierwsze, można znaleźć drobne błędy językowe, jak np. stosowanie wielkiej litery w zwrotach typu: „w Twierdzeniu 1”, „na Rysunku 3” itp. Jest to poprawny zapis w języku angielskim, ale w języku polskim powinno się pisać twierdzenie 1, rysunek 3, itp. Choć nie jest wykluczone, że w najbliższym czasie zasada ta zostanie zmieniona. Znalazłam także sporo błędów interpunkcyjnych – często przecinki pojawiają się nie tam, gdzie powinny. Pojawiają się też błędy ortograficzne – dla przykładu ciemnozielony piszemy łącznie, a nie rozdzielnie. Bywają zdania, w których występują źle odmienione wyrazy. Dodatkowo – wzory i równania matematyczne stanowią część zdania, więc do nich również stosujemy zasady interpunkcji, czego w pracy nie ma. Podsumowując – szkoda, że praca nie została staranniej zredagowana.

4. Osiągnięcia naukowe

Główne osiągnięcia naukowe, na podstawie których wnioskuję poniżej o dopuszczenie do obrony, to:

- Zaproponowanie modelu matematycznego procesu metylacji/demetylacji DNA.
- Zbadanie własności zaproponowanego modelu.
- Dopasowanie parametrów modelu do danych eksperymentalnych.
- Walidacja krzyżowa modelu.
- Dobór wersji modelu („struktury”) najlepiej odzwierciedlającej dane eksperymentalne.
- Zbadanie zmian poziomów białek TET na wyniki modelowania w modelu pełnym i dla najlepszej struktury.

5. Uwagi krytyczne i dyskusyjne

Powyżej przedstawiłam już uwagi krytyczne dotyczące braku wyraźnie sformułowanej hipotezy, jak również redakcyjnej strony rozprawy. Od strony merytorycznej – przedstawiam poniżej uwagi szczegółowe na ten temat.

Uwagi szczegółowe:

- W podrozdziale 3.3 przedstawione są rysunki 3.1 oraz 3.2 prezentujące wyniki danych eksperymentalnych. Na rys. 3.1 mamy średnie wartości z (prawdopodobnie) zaznaczonymi od-

chyleniami – czemu nie ma nic na temat tych odchyłeń w opisie? Z kolei na rys. 3.2 nie zaznaczono odchyłeń – dlaczego?

- W równaniach (4.20) są złe znaki – u_i opisują wpływy, a nie wypływy z danego kompartmentu.
- W paragrafie 4.1.3 pojawia się pojęcie „stan ustalony”. W układach dynamicznych NIE ma takiego pojęcia – może być stan/punkt stały, stan/punkt stacjonarny, stan/punkt równowagi itp. Stan ustalony to „googlowe” tłumaczenie z angielskiego określenia *steady state*.
- Dalej w tym samym paragrafie czytamy: „Równanie 4.21 jest liniowe, dlatego istnieje jedno rozwiązanie w stanie ustalonym:” – to zdanie w zasadzie w całości jest do poprawy. Jak rozumiem, chodzi o równanie (4.22), które jest następnie rozwiązywane. Jednak nie jest prawdą, że zawsze istnieje jedno rozwiązanie – należałoby uzasadnić, dlaczego tak jest w tym przypadku. Potem pojawia się też stwierdzenie, że rozwiązanie jest dodatnie. Jaka własność macierzy A_m powoduje, że łatwo możemy wnioskować o istnieniu rozwiązania? Dlaczego rozwiązanie będzie dodatnie? Poza tym, co to znaczy „rozwiązanie w stanie ustalonym”?
- Wzór (4.25) opisuje rozwiązanie stacjonarne. Należałoby napisać, w jaki sposób to rozwiązanie zostało uzyskane i jak się je „klasycznie” oblicza (specyficzna postać macierzy A_m powoduje, że obliczyć ją można „na palcach”).
- Poniżej w tym samym rozdziale czytamy: „Pierwiastki równania charakterystycznego, nazywane też biegunami układu,” – tutaj nie jestem się w stanie domyśleć, skąd pomysł, by wartości własne nazwać „biegunami”...
- Wzór (4.27) przedstawia wartości własne w jawnej postaci. Nie wiadomo, skąd się one wzięły, a dla macierzy modelu bardzo łatwo je wyznaczyć - dlaczego?
- Dalej czytamy: „Co więcej, ponieważ wszystkie wartości własne są rzeczywiste, rozwiązanie 4.21 jest aperiodyczne.” Pojawia się zatem pytanie, czy jakby były zespolone, to rozwiązanie mogłoby być periodyczne? Kiedy rozwiązanie liniowego układu równań różniczkowych jest periodyczne?
- W podrozdziale 4.5 zostały zaprezentowane wnioski dotyczące samego modelu i jego walidacji. Niestety nie jest dla mnie jasne, co dała walidacja krzyżowa i w jaki sposób został wybrany „najlepszy” model.
- Brakuje – we wszystkich rozdziałach związanych z numerycznym rozwiązywaniem układu równań różniczkowych – wskazania metody i narzędzia/programu, który posłużył do rozwiązywania badanego modelu.

6. Konkluzja

W mojej ocenie rozprawa doktorska mgr inż. Karoliny Kurasz zawiera wartościowe wyniki, które mogą posłużyć do wyznaczenia ścieżki dalszych badań nad demetylacją DNA, w szczególności w kontekście zaproponowania konkretnych eksperymentów, które mogłyby się przyczynić do dokładniejszego zbadania roli białek TET.

Dorobek publikacyjny Autorki jest wystarczający, a niebawem powinna się ukazać kolejna publikacja.

W związku z powyższym, rozprawa ta spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami) i może być przedmiotem publicznej obrony w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie *Inżynieria Biomedyczna*. Wniosuję o dopuszczenie rozprawy doktorskiej pani mgr. inż. Karoliny Kurasz do publicznej obrony.