

Dr hab. Jan Poleszczuk, prof. IBIB

Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej im. Macieja Nałęcz

Polska Akademia Nauk

jpoleszczuk@ibib.waw.pl

Recenzja pracy doktorskiej mgr Karola Nienałtowskiego
pt. *Parametric and non-parametric methods to address complexity of cellular signaling pathways*

Praca przedstawia metodykę ilościowej analizy biochemicznych szlaków sygnałowych na poziomie komórkowym przy wykorzystaniu metod parametrycznych i nieparametrycznych. Jest to zagadnienie nietrywialne, ponieważ ścieżki sygnałowe wewnątrz komórek są niezwykle skomplikowane, co pociąga za sobą konieczność stosowania do ich opisu złożonych modeli zawierających w sobie wiele parametrów, których wartości zwykle nie można zmierzyć bezpośrednio i z dużą dokładnością. Co więcej, wiele elementów tych ścieżek jest funkcjonalnie plejotropowych, a dokładna charakterystyka przepływu informacji jest wysoce heterogenna pomiędzy pojedynczymi komórkami. Praca ma na celu przedstawienie korzyści dla praktycznych zastosowań biomedycznych pochodzących z wykorzystania metod parametrycznych, w przypadku gdy do opisu zastosowano model matematyczny, oraz nieparametrycznych, gdy bada się bezpośrednio związek pomiędzy wejściem i wyjściem dla danej ścieżki w ujęciu probabilistycznym. Co najważniejsze, Autor w obu przypadkach proponuje nowe i ciekawe metody analityczne, które zostały zastosowane do konkretnych przykładów.

Parametryczna i nieparametryczna analiza szlaków sygnałowych ma stosunkowo długą historię i jest coraz częściej wykorzystywana przy projektowaniu eksperymentów i weryfikacji biologicznych hipotez. W zależności od zastosowania, nie jest jednak jasne na jaki poziom szczegółowości należy zejść w rozważanych modelach i jakie korzyści płyną z zastosowania poszczególnych metod. Wszelkie prace starające się usystematyzować stosowane podejścia, dalej je rozwijać oraz pokazywać korzyści płynące z przyjęcia danej metodologii są bardzo ważne i potrzebne. Praca mgr Nienałtowskiego bardzo dobrze wpisuje się w ten nurt i istotnie rozwija tę dziedzinę.

Praca jest dość obszerna, ma 142 stron razem z załącznikami i składa się z 5 rozdziałów oraz dodatków zawierających opublikowane artykuły mgr Nienałtowskiego. Pierwszy rozdział wprowadza czytelnika do tego czym są ścieżki sygnałowe, jakie modele można stosować do ich opisu oraz jakie są standardowe metody do ich ilościowej analizy, zarówno parametrycznej, jak i nieparametrycznej. Autor bardzo dokładnie i jasno opisuje każde poruszone zagadnienie,

przedstawiając najważniejsze zagadnienia zarówno z perspektywy biologa, jak i inżyniera biomedycznego. Rozdział jest bardzo wyczerpujący i gładko wprowadza czytelnika do dalszych części pracy. Mogę mieć jedynie drobne zastrzeżenia dotyczące niepełnego przedstawienia problemów związanych z stosowaniem „mass-action kinetics” – Autor nie napisał o tym, że przy małej liczbie cząstek ten opis może nie być adekwatny. Dodatkowo, Autor wspomina o opóźnieniach, ale przedstawiona metodologia modelowania deterministycznego ich nie obejmuje. W szczególności, np. lokalna analiza wrażliwości dla tego typu układów niesie za sobą konieczność wykorzystania pochodnych funkcyjnych (z uwagi na funkcyjny warunek początkowy). Pojawiła się również pewna nieścisłość związana ze stabilizacją rozwiązań (strona 23 po równaniu (5)) – Autor pisze, że rozwiązanie zawsze dąży do ustalonego stanu, co jednak zgodnie z moją wiedzą przy ogólnym opisie nie zawsze musi zachodzić.

Główną część pracy stanowią rozdziały od trzeci i czwarty (rozdział drugi to pół strony opisu celu pracy). W rozdziale trzecim skupiono się na dokładnym przedstawieniu podstaw teoretycznych zagadnień kluczowych dla metod zaproponowanych w kolejnym rozdziale. W rozdziale trzecim zdarzają się drobne błędy w tekście oraz w równaniach (patrz np. równanie (35)), jak również pewne nieścisłości, ale nie powodują one istotnych problemów ze zrozumieniem przedstawionego materiału. W opisie zabrakło mi jedynie nieco obszerniejszego wytłumaczenia dlaczego Renyi podważył założenia przyjęte przez Shannon’ a i z czym one dokładnie się wiążą pod kątem zastosowań biologicznych.

W rozdziale czwartym, który jest najistotniejszy dla pracy, Autor proponuje dwie nowe metody analityczne. Pierwsza z nich dotyczy ilościowej analizy parametrycznej i wykorzystuje miarę podobieństwa opartą o analizę korelacji kanonicznych. Metoda została bardzo dokładnie przedstawiona i opisana (oraz opublikowana w artykule [2]). Autor jasno pokazuje jak zaproponowana metodologia może zostać wykorzystana w projektowaniu eksperymentów biologicznych w celu poprawienia dokładności modeli parametrycznych. W opisach i równaniach pojawiają się drobne błędy i nieścisłości, ale są one czysto redakcyjne i nie wpływają istotnie na odbiór przedstawionych wyników.

Moim zdaniem najciekawszy wynik dotyczy zaproponowanej metody nieparametrycznej, która została opublikowana w renomowanym czasopiśmie Nature Communications. Autor zaproponował analizowanie odpowiedzi komórek nie na podstawie średniej, bądź mediany obserwowanych wartości, co jest zwykle robione, lecz na podstawie frakcji komórek, które przejawiają inne zachowanie dla zmienionej charakterystyki sygnału wejściowego (dawki). Autor pokazuje na przykładzie konkretnych wyników eksperymentalnych, że frakcyjna analiza odpowiedzi (tak metodę nazwał Autor) pozwala na wykrywanie zjawisk na poziomie pojedynczych komórek, co przy analizie średnich/median nie było widoczne. W rozdziale czwartym znowu pojawiają się błędy redaktorskie i to nawet w kluczowym wzorze definiującym krzywą odpowiedzi frakcyjnej (FRC; równanie (76)), ale jak poprzednio nie wpływają one istotnie na odbiór przedstawionych wyników. Zastanawia mnie jedynie sama definicja FRC, która niesie za sobą pewną, moim zdaniem nie do końca poprawną, własność. Mianowicie, wydaje mi się, że z biologicznego punktu może mieć miejsce sytuacja, w której dla większych dawek populacja przestaje odpowiadać na bodziec (zaczynają zachodzić inne procesy) – rozkład jest bliski temu początkowemu. W przypadku gdy analizujemy taką sytuację metodą standardową, czyli opartą o

średnią odpowiedź, to zaobserwujemy spadek w odpowiedzi, natomiast FRC pozostanie na niezmiennym poziomie.

Rozprawa jako całość jest spójna i dobrze napisana. Praca mgr Nienałtowskiego jest nietrywialna i wymagająca technicznie, zarówno z punktu widzenia metod numerycznych, jak i podstaw teoretycznych rozważanych zagadnień. Praca wykazuje bardzo dużą wiedzę teoretyczną Autora oraz jego umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Praca stanowi znaczący wkład w rozwijanie inżynierskich metod ilościowej analizy ścieżek sygnałowych pod kątem dalszych zastosowań biomedycznych.

Pomimo pewnych uwag krytycznych, stwierdzam, że praca z pewnością spełnia ustawowe i zwyczajowe warunki stawiane pracy doktorskiej. Pan mgr Karol Nienałtowski w pełni zasługuje na nadanie stopnia doktora i wnioskuję o dopuszczenie go do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Co więcej, z uwagi na obszerność przeprowadzonych badań, bardzo dobrze rozwinięty warsztat teoretyczny Autora, zaproponowanie dwóch nowych nietrywialnych metod analitycznych, publikacje wyników w bardzo renomowanych czasopismach oraz oprogramowanie swoich metod i udostępnienie ich w ogólnodostępnych pakietach, niniejszym wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr Nienałtowskiego.



Dr hab. Jan Poleszczuk, prof. IBIB