



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Dojazd 11
60-632 Poznań
tel. +48 61 848 72 02
e-mail: kbib@up.poznan.pl

WYDZIAŁ ROLNICTWA,
OGRODNICTWA
I BIOTECHNOLOGII
Katedra Biochemii i Biotechnologii

dr hab. n. med. Anna Woźniak, prof. UPP
Kierownik Zespołu Diagnostyki Molekularnej
Katedra Biochemii i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy
Ul. Dojazd 11
60-632 Poznań

Poznań, dnia 06.05.2024

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Murzyn
pt. „Opracowanie produktu leczniczego terapii zaawansowanej
opartego na mezenchymalnych komórkach stromalnych
w leczeniu stwardnienia zanikowego bocznego”
wykonanej pod kierunkiem
Promotor: dr hab. n. med. Natalii Rozwadowskiej, prof. IGC PAN
Promotora pomocniczego: dr n. biol. Tomasza Ołdaka
w Instytucie Genetyki Człowieka
Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Magdaleny Murzyn przygotowana została na podstawie uchwały Rady Naukowej IGC PAN w Poznaniu nr 7/55/2023 (pismo z dnia 08.04.2024 w sprawie wyboru mojej osoby na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Murzyn w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne – podpisane przez Przewodniczącego Komisji doktorskiej prof. dra hab. Ryszarda Słomskiego).

Ocena doboru problematyki badawczej i tematu rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w ramach III edycji programu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego pt. „Doktorat wdrożeniowy” z udziałem przedsiębiorstwa Polski Bank Komórek Macierzystych sp. z o. o. a także w ramach

projektu „Opracowanie produktu leczniczego terapii zaawansowanej opartego na komórkach mezenchymalnych galarety Whartona w leczeniu stwardnienia zanikowego bocznego (NCBiR, Program sektorowy InnoNeuroPharm, beneficjent Polski Bank Komórek Macierzystych sp. z o. o.).

Praca doktorska Pani mgr Magdaleny Murzyn dotyczy problematyki zastosowania terapii komórkowej w leczeniu stwardnienia zanikowego bocznego (ang. *amyotrophic lateral sclerosis*, ALS). Choroba ta należy do schorzeń neurodegeneracyjnych ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego, a ze względu na dużą różnorodność symptomów (co utrudnia postawienie trafnej diagnozy), nie w pełni poznaną etiologię i patofizjologię, skuteczne jej leczenie jest bardzo ograniczone. Zatem opracowanie efektywnej terapii jest niezwykle pilną potrzebą.

W erze dynamicznego rozwoju metod pozyskiwania, jak i również pełnej charakterystyki molekularnej komórek macierzystych, wykorzystanie terapii komórkowej staje się obiecującą alternatywą dotychczasowych sposobów leczenia.

W związku z powyższym, uważam, że **tematyka przedstawiona w pracy doktorskiej jest niebywale celna i istotna** a podjęcie próby opracowania produktu leczniczego terapii zaawansowanej opartego na mezenchymalnych komórkach stromalnych (ang. *mesenchymal stromal cells*, MSC) w leczeniu stwardnienia zanikowego bocznego jest wyzwaniem współczesnej biomedycyny i nawiązuje do aktualnej tematyki realizowanej przez wiodące ośrodki naukowe.

Ocena układu pracy

Rozprawa doktorska mgr Magdaleny Murzyn składa się z 202 stron wydruku komputerowego i obejmuje 9 rozdziałów: wstęp, cele pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja, podsumowanie, wnioski końcowe, lista procedur powstała w ramach doktoratu wdrożeniowego, spis piśmiennictwa (103 aktualne pozycje literaturowe). Praca zawiera również spis treści, wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim.

Praca została zredagowana poprawnie, a sporadyczne niedoskonałości edytorskie (brak w wykazie skrótów ich nazw angielskich lub przeciwnie - polskich) nie wpływają na **pozytywną ocenę układu rozprawy doktorskiej**, dlatego też je pomijam.

Ocena merytoryczna

W rozdziale pierwszym, Doktorantka opisała z niezwykłym kunsztem pisarskim wstęp literaturowy, w którym czytelnik może zapoznać się z charakterystyką stwardnienia zanikowego bocznego, jego objawami, potencjalnymi przyczynami, typami klinicznymi, epidemiologią, udziałem podłoża genetycznego i mechanizmem ALS. W dalszych

podrozdziałach Doktorantka wyjaśnia rolę aktywacji mikrogleju w odpowiedzi na stres lub uszkodzenie ośrodkowego układu nerwowego w ALS; przedstawia zagadnienie zaburzeń układu odpornościowego w ALS; opisuje proces diagnostyki i leczenia pacjentów z ALS; prezentuje możliwość szybkiej i łatwej diagnozy oraz predykcji terapii ALS z wykorzystaniem biomarkerów. Druga część wstępu literaturowego jest poświęcona zagadnieniu wykorzystania komórek MSC jako produktu terapii komórkowej. Autorka opisuje wnikliwą charakterystykę tych komórek; historię badań nad nimi, ponadto, podaje źródła MSC wraz ich zdolność do różnicowania; kryteria klasyfikacji; rolę MSC i proponowane ścieżki oddziaływania produktu komórkowego u chorych z ALS, co jednoznacznie podkreśla trafny wybór komórek dedykowanych terapii. Doktorantka przedstawia również krajobraz badań klinicznych z wykorzystaniem MSC oraz, z uwagi charakter wdrożeniowy pracy, uregulowania prawne (rozporządzenie EU nr 1394/2007) oraz niezbędne warunki (Dobra Praktyka Produkcyjna, ang. *Good Manufacturing Practice*, GMP), procedury i zgody (Głównego Inspektora Farmaceutycznego, Komisji Bioetycznej) konieczne do opracowania produktu leczniczego terapii zaawansowanej opartej na komórkach mezenchymalnych galarety Whartona (WJ-*MSC*). **Wnikliwy opis wstępu świadczy o dużej znajomości analizowanej przez Doktorantkę problematyki.**

Drugi rozdział pracy doktorskiej mgr Magdaleny Murzyn stanowi opis celów pracy. **Autorka bardzo świadomie i trafnie dokonała podziału celów na dwa główne filary pracy:** pierwszy dedykowany był przygotowaniu i charakterystyce produktu komórkowego, natomiast drugi dotyczył przeprowadzenia badania klinicznego fazy I/II o nazwie ALSTEM.

W rozdziale trzecim Doktorantka syntetycznie opisuje wykorzystane w pracy materiały i metody, dodając klauzulę: „*Ze względu na możliwość naruszenia tajemnicy oraz know-how przedsiębiorstwa w rozprawie doktorskiej zawarto jedynie ogólne opisy wykonanych metod oraz użytych materiałów*”. **W mojej ocenie Doktorantka dokonuje opisów materiałów i metod w sposób jasny, w pełni dla mnie informatywny i zgodny z założonymi celami.** Autorka przedstawia etapy: utworzenia banku produktów ATMP (ang. *advanced therapy medicinal product*, produkt leczniczy terapii zaawansowanej) opartych na allogenicznych komórkach mezenchymalnych z galarety Whartona zgodnie z obowiązującymi normami aktualnej Dobrej Praktyki Produkcyjnej; rozszerzonej charakterystyki banku z produktami WJ-*MSC* i jego klasteryzacja; badania klinicznego; statystycznej analizy danych.

W rozdziale czwartym Autorka przedstawia, na prawie stu stronach, w bardzo szczegółowy i ustrukturyzowany sposób, wyniki swoich badań. Dotyczą one czterech głównych aspektów: banku produktów komórkowych WJ-*MSC*; rozszerzonej charakterystyki banku produktów komórkowych WJ-*MSC*; klasteryzacji banku produktów komórkowych WJ-*MSC* oraz badań klinicznych.

W dalszej części rozprawy **Autorka poddaje dyskusji uzyskane przez siebie wyniki i trafnie konfrontuje je z danymi literaturowymi. Zrozumienie całości tak bardzo rozbudowanej pracy ułatwia skrótowe podsumowanie pracy oraz syntetycznie wyrażone wnioski końcowe, które stanowią klarowne odzwierciedlenie zaplanowanych celów pracy.** Ostatnie rozdziały pracy zawierają listę procedur oraz oceniony przez mnie w początkowych stronach recenzji, spis piśmiennictwa.

Za najważniejsze wyniki rozprawy doktorskiej uznaję:

1. Przygotowanie preparatów badanego produktu leczniczego (BPL) opartych na komórkach mezenchymalnych galarety Whartona (WJ-MSC) uzyskanych od 14 dawców.
2. Dokonanie rozszerzonej charakterystyki banku produktów komórkowych WJ-MSC w celu identyfikacji heterogenności komórek i wskazanie włączenia jej jako charakterystyki rutynowej do minimalnych kryteriów definiowania mezenchymalnych komórek stromalnych.
3. Przyporządkowanie produktów leczniczych terapii zaawansowanej (ATMP) do trzech klastrów.
4. Przeprowadzenie badań klinicznych fazy I/II uzyskanych allogenicznych komórek WJ-MSC u 19 chorych z rozpoznaniem stwardnienia zanikowego bocznego (ALS), które zdefiniowały grupę chorych z pozytywną odpowiedzią, rzędu 42% analizowanej grupy.
5. Wskazanie parametrów predykcyjnych.

Podsumowując ocenę merytoryczną pracy pragnę podkreślić spójność i konsekwencję w prowadzonych badaniach. Niezwykle szczegółową analizę zarówno materiału biologicznego pacjentów biorących udział w badaniu klinicznym, jak i produktu komórkowego wytypowanego do badań. Autorka z pełną świadomością i odpowiedzialnością naukową zrealizowała niezwykle zaawansowane technicznie, analitycznie i koncepcyjnie cele swojej pracy doktorskiej. Doktorantka z pełnym zaangażowaniem realizowała założenia programu „Doktorat wdrożeniowy”. Pragnę jednak zauważyć, że tak niezwykła aktywność i umiejętności badawczo-analityczne mogły rozwinąć się u Młodego Badacza tylko w wyniku starannej opieki doświadczonego w pracy eksperymentalnej jak i wdrożeniowej Promotora.

Uwagi krytyczne:

1. **Wykaz skrótów** jest niekompletny.
2. **Streszczenie** pracy w języku polskim i angielskim są zdecydowanie **za długie**. W przedstawionej pracy liczy sobie 4 strony a zwyczajowo uznaje się maksymalną

objętość 1 stronę.

3. **Stosowanie skrótów myślowych w opisie metodyki:** podrozdział 3.2.4 „... *probki RNA zworteksowano oraz zwirowano przez 2 sekundy na programie short spin*”, „*Tego samego dnia specjalny kurier odbierał zamrożony materiał...*”.
4. W tak rozbudowanej pracy powinien się znaleźć **spis rycin**, których liczba wynosi aż 138.
5. **Skróty nazw** angielskich lub polskich pojawiających się w tekście są wielokrotnie rozwijane, a powinny być opisane w pełni tylko, gdy opisywane są po raz pierwszy.

Zagadnienia, wobec których proszę Doktorantkę o ustosunkowanie się:

1. Czy znane są Pani opisy literaturowe ukazujące związek pomiędzy występowaniem choroby autoimmunologicznej a zachorowaniem na stwardnienie zanikowe boczne?
2. Czy opracowany przez Panią produkt leczniczy terapii zaawansowanej opartej na mezenchymalnych komórkach stromalnych ma lub może mieć charakter uniwersalny w terapii chorób wymagających immunomodulacji i/lub wdrażania działania przeciwwzapalnego?
3. W rozdziale Wyniki opisuje Pani, że w celu wytworzenia produktów komórkowych zostało pobranych ok. 300 sznurów pepowinowych, z których do dalszej preparatyki wybrano 60 a potem już tylko 14. Rozumiem potrzebę restrykcyjnych procedur kwalifikacji materiału biologicznego ale czy ma Pani w planach zwiększenie wydajności uzyskiwania materiału?

Wniosek końcowy

W podsumowaniu, praca doktorska Pani mgr Magdaleny Murzyn została napisana i edytowana poprawnie, zgodnie z wymaganiami stawianymi tego typu opracowaniom. Praca stanowi spójny opis założonych celów (uzasadnionych pilną potrzebą wdrożenia efektywnych terapii ALS), uzyskanych wyników i sformułowanych wniosków. Ponadto, należy zwrócić szczególną uwagę, że badania te reprezentują charakter innowacyjny i potencjał wdrożeniowy, zatem praca ta spełnia nie tylko kryteria programu MNiSW ale również oczekiwania społeczeństwa odnośnie aplikacyjności badań naukowych, szczególnie w obszarze nauk medycznych.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Murzyn pt.: „Opracowanie produktu leczniczego terapii zaawansowanej opartej na mezenchymalnych komórkach stromalnych w leczeniu stwardnienia zanikowego bocznego” wykonanej pod kierunkiem promotora: dr hab. Natalii Rozwadowskiej, prof. IGC i promotora pomocniczego:

dra Tomasza Ołdaka w Instytucie Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.). Zwracam się zatem do Rady Naukowej Instytutu Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Murzyn do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.

W oparciu o wysoką ocenę rozprawy, charakter aplikacyjny produktu komórkowego, oryginalność i innowacyjne podejście do nowoczesnych terapii medycznych - zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



Anna Woźniak