

Kraków, 28 czerwca 2024 roku

Recenzja pracy doktorskiej mgr Magdaleny Murzyn  
**„Opracowanie produktu leczniczego terapii zaawansowanej opartego na  
mezenchymalnych komórkach stromalnych w leczeniu u stwardnienia  
zanikowego bocznego “**



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM  
MEDICUM

Przedstawiona do recenzji praca doktorska pt. **„Opracowanie produktu leczniczego terapii zaawansowanej opartego na mezenchymalnych komórkach stromalnych w leczeniu u stwardnienia zanikowego bocznego”** jest monografią, w której poruszony został ważny temat opracowania wystandaryzowanego produktu ATMP w celu leczenia stwardnienia zanikowego bocznego.

Wydział Lekarski

Instytut Pediatrii

Badania do pracy doktorskiej były wykonane w ramach programu „Doktorat wdrożeniowy” DWD/3/27/2019 wraz z Polskim Bankiem Komórek Macierzystych sp. z o.o. oraz projektu NCBiR „Opracowanie produktu leczniczego terapii zaawansowanej opartego na komórkach mezenchymalnych galarety Whartona w leczeniu stwardnienia zanikowego bocznego” POIR.01.02.00-00-0024/17-00.

Katedra Immunologii Klinicznej  
i Transplantologii

Zakład Transplantologii

Stwardnienie boczne zanikowe (ALS) jest nieuleczalną chorobą neurodegeneracyjną, która dotyka 5 osób na 100 tys. Średni okres przeżycia wynosi mniej niż 5 lat i wiąże się z postępującą utratą funkcji motorycznych, komunikacyjnych oraz zaburzeniami oddychania prowadzącymi do śmierci. Dlatego bardzo ważne jest prowadzenie szerokich i międzydiscyplinarnych badań nad nowymi sposobami leczenia tej choroby. Niniejsza praca wpisuje się bardzo dobrze w ten nurt poprzez opracowanie nowego produktu leczniczego terapii zaawansowanych opartego o komórki macierzyste.

Medycyna regeneracyjna jest rozwijającą się dziedziną medycyny opierającą się o różnego typu działania, mające na celu regenerację i/lub naprawę z uszkodzonymi tkankami poprzez bezpośrednie lub pośrednie oddziaływanie komórek na uszkodzoną tkankę. W tym celu wykorzystane są różne typy komórek macierzystych m.in. komórki macierzyste mięśniowe, komórki macierzyste nerwowe, komórki macierzyste izolowane ze szpiku kostnego, głównie komórki macierzyste krwiotwórcze, komórki macierzyste mezenchymalne czy komórki uzyskane poprzez różnicowanie indukowanych komórek pluripotencjalnych lub embrionalnych komórek macierzystych. Pozostają jednak ciągle pytania, co do możliwości maksymalnego wykorzystania potencjału stosowanych w terapiach komórek. Jednak, aby ocenić ten

ul. Wielicka 265

PL 30-663 Kraków

tel.: +48(12) 659 15 93

fax: +48(12) 659 15 94

zt@cm-uj.krakow.pl

maksymalny potencjał komórki muszą być przygotowywane w sposób powtarzalny i wystandaryzowany zgodnie z Dobrą Praktyką Wytwarzania (GMP) oraz poddane szczegółowej charakterystyce w celu standaryzacji ich produkcji, dopuszczenia do podania pacjentowi oraz przyszłej rejestracji centralnej.

Dlatego przedstawiona do recenzji praca jest bardzo istotna, ponieważ jej celem było opracowanie produktu ATMP w celu leczenia pacjentów ze stwardnieniem zanikowym bocznym zgodnie w wytycznymi GMP oraz bardzo szczegółowa charakterystyka produktu leczniczego.

Praca doktorska mgr Magdaleny Murzyn posiada standardowy dla monografii układ i składa się ze streszczenia w języku polskim i angielskim, wstępu, opisu głównych założeń pracy, opisu metodyki, wyników, dyskusji, podsumowania, wniosków, listy procedur oraz bibliografii. Jediną istotną różnicą w porównaniu z większością monografii jest lista standardowych procedur operacyjnych, która powstała w ramach realizacji doktoratu wdrożeniowego.

Wstęp został bardzo dobrze przygotowany, doktorantka szczegółowo przedstawiła informacje na temat klinicznego ALS, epidemiologii tej choroby, a także mechanizmów jakie mogą być odpowiedzialne za jej powstanie a także przebieg. Następnie przedstawiała informacje na temat komórek, które mogą być zaangażowane w powstawanie a także rozwój choroby ze szczególnym uwzględnieniem komórek układu immunologicznego, mikrogleju oraz limfocytów. Doktorantka opisała także przebieg diagnostyki oraz leczenia ALS. Przedstawione zostały także markery, które mogą być pomocne zarówno w diagnozowaniu, a także w ocenie przebiegu choroby. Ostatnią i największą część wstępu stanowią informacje na temat komórek MSC jako produktu terapii komórkowej. Do tej części mam kilka uwag i pytań.

Doktorantka pisze na samym początku, iż najważniejszymi cechami komórek macierzystych jest ich zdolność do proliferacji oraz różnicowania. Wydaje mi się, iż najważniejszą właściwością komórek macierzystych, która odróżnia je od innych komórek jest zdolność do samoodnowy, i to nie tylko jak zaznacza doktorantka w trakcie podziałów asymetrycznych, ale także symetrycznych.

Doktorantka przedstawia pobranie szpiku jako metodę inwazyjną, wymagającą znieczulenia oraz leczenia szpitalnego. Oczywiście pobranie szpiku jest metodą inwazyjną i wymaga znieczulenia, ale nie wymaga leczenia szpitalnego tylko pobytu w szpitalu w związku z pobraniem, często ambulatoryjnym.

Kolejną informacją przedstawioną w tej części wstępu jest ta dotycząca zdolności komórek MSC do różnicowania w różne typy komórek. Warto by



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM  
MEDICUM

Wydział Lekarski

Instytut Pediatrii

Katedra Immunologii Klinicznej  
i Transplantologii

Zakład Transplantologii

ul. Wielicka 265

PL 30-663 Kraków

tel.: +48(12) 659 15 93

fax: +48(12) 659 15 94

zt@cm-uj.krakow.pl

doprecyzować jakie typy, skoro może to być związane z pozytywnym działaniem tych komórek.

Nie można także pisać o produktach ATMP jako „szybko rozwijającej się dziedzinie medycyny”.

Wszystkie moje uwagi nie wpływają na moją bardzo wysoką ocenę za przygotowanie wstępu.

Doktorantka jasno sprecyzowała i przedstawiła główny cel pracy, a następnie opisała pięć prac badawczych koniecznych do jego osiągnięcia.

W opisach metod badawczych widać ich bardzo dobrą znajomość przez doktorantkę. Metody zastosowane w doktoracie to zarówno techniki molekularne, zaawansowane techniki hodowlane, metody cytometryczne, czy analizy bioinformatyczne. Te ostatnie nie zostały jednak wymienione i opisane w tej części doktoratu. Opisany natomiast został szczegółowo protokół badania klinicznego, w którym doktorantka raczej nie brała bezpośrednio udziału a tylko czerpała materiał biologiczny. Metodyka została prawidłowo dobrana do założeń i celów doktoratu.

Wyniki, a właściwie podsumowanie najważniejszych wyników zostało przedstawione w sposób przejrzysty. Badania opisane w tej części zostały zaplanowane w sposób poprawny, zarówno co do ilości badań jak i ich sekwencji. Wykonane badania są zgodne z określonymi wcześniej zadaniami badawczymi. Drobnym błędem w wynikach dotyczy figury 49 część B, gdzie w opis pod figurą powinien dotyczyć płci a nie wieku pacjentów. W wynikach mogły znaleźć się przykładowe barwienia cytometryczne oraz graficzny opis sposobu tworzenia bramek.

Dyskusja wyników w kontekście opublikowanych w literaturze prac jest zwięzła, przejrzysta i została napisana w sposób, który świadczy o bardzo dobrej znajomości tematu. Doktorantka swobodnie omawia swoje wyniki w kontekście wcześniej publikowanych danych.

Podsumowaniem pracy jest pięć wniosków, które stanowią wyczerpującą odpowiedź dla postawionych przez doktorantkę celów pracy. Wnioski dobrze podsumowują badania i zwracają uwagę na najważniejsze wyniki uzyskane w czasie prowadzenia badań.

Poziom pracy uważam za bardzo wysoki. Pojawiło się w pracy kilka drobnych błędów, ale nie umniejszają one świetnego przygotowania pracy, przedstawienia uzyskanych wyników oraz przeprowadzenia dyskusji.



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM  
MEDICUM

Wydział Lekarski

Instytut Pediatrii

Katedra Immunologii Klinicznej  
i Transplantologii

Zakład Transplantologii

ul. Wielicka 265

PL 30-663 Kraków

tel.: +48(12) 659 15 93

fax: +48(12) 659 15 94

zt@cm-uj.krakow.pl

Po zapoznaniu się z przedstawioną mi do recenzji pracą stwierdzam, iż rozprawa doktorska spełnia warunki określone dla tego typu prac i zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Murzyn do dalszych etapów przewodu doktorskiego i ze względu na bardzo wysoki poziom pracy wnioskuję o przyznanie wyróżnienia ocenianej przez mnie rozprawie.

Z poważaniem,

Zakład Transplantologii  
Katedry Immunologii Klinicznej  
i Transplantologii UJ CM

  
prof. dr hab. Marcin Majka



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM  
MEDICUM

Wydział Lekarski

Instytut Pediatrii

Katedra Immunologii Klinicznej  
i Transplantologii

Zakład Transplantologii

ul. Wielicka 265

PL 30-663 Kraków

tel.: +48(12) 659 15 93

fax: +48(12) 659 15 94

zt@cm-uj.krakow.pl