



Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

**Katedra i Klinika
Neurologii Wieku Rozwojowego**

60-355 Poznań, ul. Przybyszewskiego 49
☎ (061) 8691255 fax: (061)8691553

Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Barbara Steinborn

bstein@ump.edu.pl

Poznań, dn. 19.10.2024r.

Recenzja pracy doktorskiej mgr Marty Budzińskiej

pt.: "Autologiczne komórki pochodzenia miogenego od pacjentów dystroficznych poddane modyfikacji genetycznej jako nowa strategia poprawy struktury i funkcji mięśni szkieletowych w chorobie Duchenne`a".

Autorka podjęła się opracowania interesującego i ważnego pod względem nie tylko poznawczym ale i klinicznym w neurologii, tematu jakim jest poszukiwanie nowych sposobów poprawy funkcji mięśni szkieletowych u chorych na dystrofię mięśniową typu Duchenne`a.

Dystrofia typu Duchenne`a (DMD) jest genetycznie uwarunkowaną, postępującą chorobą pierwotnie mięśniową, prowadząca do inwalidztwa i niewydolności oddechowej u wszystkich chorych. Diagnostyka jest dobrze poznana i prowadzona jest wtedy gdy pojawiają się już objawy miopatyczne. Wczesne wprowadzenie leczenia w oparciu o badania genetyczne i określenie odpowiedniej mutacji (genotypu) jest już w niektórych przypadkach możliwe dzięki rejestracji (w USA i niektórych krajach arabskich) terapii genowej (delandistrogene moxeparvovec – Elevidys).

Poznanie także patofizjologii tej postępującej choroby może być pomocne w przygotowaniu i prowadzeniu odpowiedniego sposobu terapii. Temu właśnie tematowi poświęcona jest ta praca. Dla klinicysty, co zasługuje na uwagę, są to ważne i dotąd pomijane aspekty zrozumienia objawów tej choroby.

Praca, którą przedstawiono mi do recenzji ma tradycyjny charakter pracy doktorskiej. Została przygotowana starannie. Składa się z dobrze przygotowanych poszczególnych części. Praca liczy 67 stron, umieszczono także wykaz skrótów oraz piśmiennictwo.

Autorka recenzowanej pracy postawiła sobie za cel ocenę możliwości poprawy funkcji mięśni szkieletowych przy wykorzystaniu linii indukowanych komórek mezenchymach modyfikowanych mikrodstrofiną. Zaplanowanie takiego sposobu prowadzenie badania jest nowatorskie i zasługuje na wyróżnienie. Jest także obiecujące dla przyszłości poznania szczegółowej patofizjologii i proponowanych metod leczenia DMD

Doktorantka we wstępie przedstawia dane dotyczące podłoża molekularnego DMD, fizjologii skurczu mięśniowego a także zwraca uwagę, co jest niezwykle ważnym elementem, na występowanie przewlekłego stanu zapalnego w mięśniach chorych na DMD. Podkreśla znaczenie pojawiania się destabilizacji środowiska redox w miocytach, która jest spowodowana brakiem dystrofiny. Zauważa, że działania z wykorzystaniem terapii antyoksydacyjnej może poprawić funkcje dystroficznych mięśni. We wstępie omawia także rolę ścieżki sygnałowej STARS oraz SRF w mięśniach dystroficznych. Prezentuje także obecny stan możliwości terapeutycznych DMD. Ta część pracy jest przygotowana starannie, w oparciu o aktualne piśmiennictwo, chociaż w kilku miejscach zabrakło odpowiedniego cytowania opublikowanych wcześniej prac. Doktorantka dobrze dobrała ryciny, schematy i tabele.

Wszystkie cele, w oparciu o dobrze przygotowany materiał i metody badawcze, konsekwentnie zrealizowała i bardzo skrupulatnie przedstawiła wyniki tych badań.

Projekt badania z punktu widzenia klinicysty jest nowatorski. W części poświęconej omówieniu materiału badawczego i metod Doktorantka skrupulatnie omówiła charakterystykę materiału wykorzystanego do badań. Z dużym znawstwem tematu prezentuje kolejne etapy przygotowania komórek, proces różnicowania komórek iPS do HIDEMs i ich oceny a także transdukcji tych komórek. Prezentuje także analizę całkowitej pojemności antyoksydacyjnej, aktywności katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej. Oddzielną część rozdziału – metody- poświęca omówieniu mysiego modelu DMD i sposobów oceny sprawności zwierząt po transplanacji indukowanych komórek. Ten rozdział przygotowano prawidłowo i starannie. Autorka posiłkuje się dobrze przygotowanymi tabelami, które ułatwiają rozumienie pracy..

Metody statystyczne użyte do analizy wyników są poprawne.

Wyniki swoich badań Autorka przedstawiła szczegółowo wykorzystując liczne tabele i wykresy, które są przygotowane starannie i poprawnie. Taki sposób prezentacji wyników znacznie ułatwia ich analizę i ocenę. Ta ocena dotyczy zarówno prezentacji materiału tj. charakterystyki komórek iPS, ich różnicowania do HIDEMs, transdukcji tych komórek przy wykorzystaniu konstrukcji lentiwirusowej, oceny aktywności enzymów antyoksydacyjnych a także ekspresji genów ścieżki sygnałowej STARS. Wyniki, które prezentuje są interesujące ze względu na możliwość poznania istnienia i stopnia nasilenia procesów zapalnych w mięśniu dystroficznym.

Interesującą częścią są także badania funkcji tych komórek/ mięśni modyfikowanych podaniem mikrodstrofiny. Mimo braku spodziewanych, wydawałoby się, skutków zastosowania takiego sposobu postępowania, ocena zmian aktywności antyoksydacyjnej w homogenizatach komórek HIDEMs przed i po transdukcji potwierdza konieczność zastosowania mikrodstrofiny w leczeniu DMD.

Dyskusja, mimo jej zwięzłego charakteru, jest także mocną stroną tej dysertacji,. Doktorantka analizuje aktualne, dobrze dobrane piśmiennictwo i porównuje je ze swoimi wynikami. Przytacza publikacje podsumowujące efekty dotychczasowych badań klinicznych z wykorzystaniem wektorów wirusowych AAV do podania mikrodstrofiny w postaci pojedynczego wlewu. Zwraca też uwagę na możliwe powikłania w postaci zaburzeń układu immunologicznego. Poszukiwanie innych metod, jak ten opracowany w tej pracy, być może będzie podstawą do personalizacji leczenia. W pracy jednak, jak podkreślono nie szukano nowych, przyczynowych terapii ale zajęto się między innymi oceną możliwości poprawy funkcji mięśni szkieletowych. W prowadzonych dotychczas badaniach klinicznych z DMD oprócz oceny ekspresji dystrofiny zwraca się uwagę na stabilizację funkcji ruchowych chorych.

Wnioski są sformułowane poprawnie. Mogą też mieć istotne znaczenie jako wyznaczenie sposobów przygotowania nowatorskich modeli leczenia dystrofii z wykorzystaniem komórek macierzystych z mikrodstrofiną.

Piśmiennictwo, aktualne, zostało przygotowane w sposób niekonsekwentny. Przyjęto różny, niejednakowy sposób prezentacji cytowanych prac.

Rozprawę doktorską mgr Marty Budzińskiej oceniam bardzo dobrze. Jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego o nowotarskim charakterze i

jednocześnie może być wykorzystana jako wskazówka praktyczna do planowania innych badań naukowych. Ma wiele walorów, nowatorskich, odkrywczych i poznawczych. Uzasadnia też konieczność dalszych poszukiwań mechanizmów procesu „dystroficznego” w mięśniach. Doktorantka wykazała się dobrą wiedzą teoretyczną oraz umiejętnością prowadzenia pracy naukowej. Zasluguje na wyróżnienie.

Wnioskuje do Rady Naukowej Instytutu Genetyki Człowieka PAN o dopuszczenie mgr Marty Budzińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz wyróżnienie tej pracy.

Barbara Steinborn