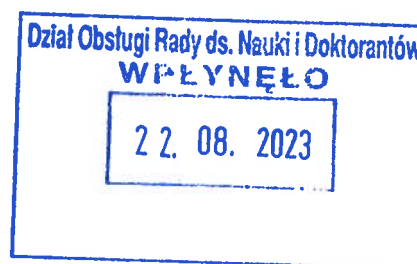


Prof. zw. dr hab. n. farm. Justyn Ochocki
Katedra Chemii Medycznej
Zakład Chemii Bionieorganicznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Muszyńskiego 1
90-151 Łódź
e-mail: justyn.ochocki@umed.lodz.pl

Łódź, 5 sierpnia 2023



Recenzja pracy doktorskiej

pt. „Ocena aktywności transdukcyjnej rekombinowanych wektorów wirusowych związanych z adenowirusami (rAAV) ex vivo”

Rozprawa doktorska Pani mgr Heleny Poławskiej „Ocena aktywności transdukcyjnej rekombinowanych wektorów wirusowych związanych z adenowirusami (rAAV) ex vivo” jest wyrazem badań naukowych prowadzonych w Zakładzie Farmacji Stosowanej Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Praca stanowi nie tylko kontynuację badań prowadzonych w Zespole prof. dr hab. n. farm. Macieja Małeckiego, eksperta z obszaru farmacji medycznej i stosowanej, ale zostaje wprowadzony w niej również potencjalny sposób wykorzystania wyników badań w tak bardzo ważnej gałęzi medycyny jaką jest transplantologia.

Rozprawa dotyczy wybranych zagadnień, dobrze rozpoznawalnej w środowisku medycznym transplantologii narządowej. Przeszczepianie narządów budzi cały czas olbrzymi entuzjazm wśród lekarzy, farmaceutów, a przede wszystkim wśród oczekujących na przeszczep pacjentów. Transplantologia bezpośrednio ratuje ludzkie życie.

Jest powszechną jednak wiedzą, że istnieje dysproporcja między podażą narządów, a potrzebami oczekujących pacjentów. Ponadto wiele trudności, których podstawą są np. mechanizmy ekspresji antygenów zgodności tkankowej, odrzucania przeszczepów, pozostaje cały czas nierozwiązanych pomimo poprawiającej się efektywności procedur transplantacyjnych

Zgodnie z założeniami niniejszej pracy doktorskiej, obecna transplantologia narządowa wymaga udoskonalień, które mogą być realizowane za pomocą metod proponowanych przez inżynierię genową.

Metodologia inżynierii genowej pozwala uzyskiwać preparaty genowe wirusowe, np. wektory rekombinowanych wirusów związanych z adenowirusami (adeno-associated virus), których aktywność transdukcyjną można wykorzystać do wprowadzania wybranych genów do narządów transplantacyjnych np. serca, nerki, wątroby. Wprowadzane geny zmieniają, 'udoskonalają' wybrane funkcje narządów warunkujące np. kurczliwość, rozpoznawalność przez układ immunologiczny, aktywność detoksykacyjną.

Obecnie laboratoria dysponują narzędziami do przeprowadzania sprawnych zabiegów na DNA, stąd modyfikacja genu narządów przeznaczonych do transplantologii z założenia metodologicznego jest możliwa. Wydajny przebieg procedur genoterapii wymaga jednak udziału specjalistycznej kadry badaczy oraz olbrzymich i czasochłonnych badań. Doktorantka porusza w swojej pracy kilku zagadnień ze środowiska niezwykle szeroko rozpisanej koncepcji badawczej o uniwersalnych implikacjach, to jest transplantologii molekularnej.

W pracy Doktorantka skupia uwagę głównie na analizie stabilności wektorów rAAV w wybranych płynach transplantacyjnych oraz przeprowadza badania transdukcji serc wektorami rAAV.

Dysertacja posiada klasyczny układ pracy doktorskiej, zawiera wstęp opisujący wybrane zagadnienia stanu wiedzy (głównie transplantologia w znaczeniu klinicznym oraz krótka charakterystyka biologii AAV), cele pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo oraz załącznik. Praca przygotowana została w sposób bardzo poprawny.

W mojej ocenie we wstępie Doktorantka powinna zawrzeć szersze dane o dostępnych genowych rozwiązaniach technologicznych opartych na strategii *ex vivo*, np. informacje o zatwierdzonych produktach leczniczych do infuzji, które zawierają np. autologiczne strandukowane wektorem frakcje komórkowe.

W pracy doktorskiej Pani mgr Helena Poławska wykorzystała preparaty wektorów reporterowych rAAV serotyp nr 2, badania przeprowadzono na materiale biologicznym pochodzącym od zwierząt laboratoryjnych (serca, myszy). Metodologia pracy jest dobrze dobrana choć nie jest zbyt rozbudowana. Analizy stabilności oraz transdukcji oparto przede wszystkim na metodzie qPCR. Materiał wynikowy Doktorantka przedstawia w formie rysunków, tabel, obrazów elektroforetycznych.

Opracowanie wyników jest poprawne, są komentarze do uzyskiwanych danych, są również reprezentatywne analizy statystyczne. Rozprawa jest wzbogacona o obszerny załącznik, który zawiera wyniki badań zawarte i opracowane już wcześniej w podstawowym opracowaniu doktorskim. Z kolei w podstawowym manuskrypcie dysertacji Doktorantka nie

wykorzystała metod statystycznych zawartych w załączniku. Rodzi to pytanie celowości takiego układu pracy.

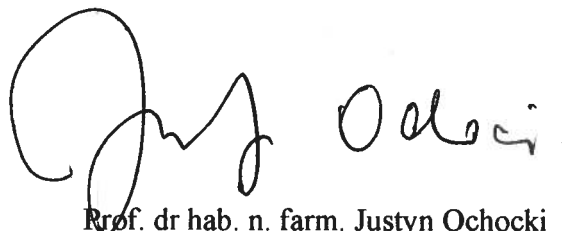
Cenne wnioski płyną z oceny stabilności wykorzystanych wektorów rAAV w płynie *sensu stricto* przeznaczonym do procedur transplantacyjnych (Custodiol). Autorka pracy charakteryzuje zachowanie, stan wektorów rAAV w badanych płynie w różnych warunkach ekspozycji na temperaturę i w różnych czasach. Uzyskiwane wyniki korespondują z danymi uzyskiwanymi przez inne zespoły badaczy oraz dobrze oddają aktualność przeprowadzonych przez Doktorantkę badań. Za najważniejsze osiągnięcia przedstawione w recenzowanej pracy należy uznać:

1. Wykazanie, że wektory rAAV transdukują komórki serca w warunkach *ex vivo*.
2. Wykazanie, że środowisko płynu kardioplegicznego warunkuje stabilność transdukcyjną wektorów rAAV.
3. Udowodnienie możliwości modyfikacji / poprawy funkcji narządu przeznaczonego do przeszczepu na drodze genoterapii. Może to być kolejnym krokiem w rozwoju transplantologii narządowej

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Heleny Poławskiej stanowi wartościowe opracowanie naukowe. Płynące z przeprowadzonych badań wyniki poszerzają stan wiedzy dotyczący charakterystyki wektorów rAAV jako nośników genów użytecznych w procedurach transplantologii narządowej. Uzyskane przez Doktorantkę informacje są użyteczne do planowania protokołów doświadczalnej transplantologii serca.

Dalsze badania ukierunkowane na zastosowanie terapeutycznych wektorów rAAV np. z genami HLA powinny wypromować procedurę modyfikacji *ex vivo* na potrzeby transplantologii narządowej serca człowieka.

Praca doktorska Pani mgr Heleny Poławskiej spełnia wymagania formalne stawiane rozprawom doktorskim. Wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pani mgr Heleny Poławskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. n. farm. Justyn Ochocki

