

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marcina Komorowskiego p.t.:

Oncolytic Vaccinia Virus in the Treatment of Cancer Targeting Metastatic and Chemoresistant Ovarian Cancer by a CXCR4 antagonist-armed Viral Oncotherapy

Promotorem pracy jest dr hab. n. med. Bogumiła Litwińska, prof. nadzw. z Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny. Kopromotorem jest prof. Danuta Kozbor, Department of Immunology Roswell Park Cancer Institute Buffalo, USA.

Część eksperymentalna pracy powstała w Roswell Park Cancer Institute, który jest nie tylko jednym z najwyższej notowanych na świecie ośrodków badawczych zajmujących się chorobami nowotworowymi, lecz także cenionym ośrodkiem klinicznym, w którym pacjenci mają szansę na udział w terapiach eksperymentalnych. Uważam za rzecz niezwykle cenną, że dzięki współpracy dwóch renomowanych ośrodków badawczych młodzi naukowcy mają szansę na prowadzenie badań naukowych w najlepszych światowych ośrodkach naukowych.

Rozprawa doktorska napisana jest w języku angielskim, co po jej opublikowaniu w wersji elektronicznej zwiększy zasięg czytelników.

Nowotwory są drugą, po chorobach układu krążenia, przyczyną zgonów w krajach rozwiniętych. W Polsce liczba zachorowań na nowotwory złośliwe w ciągu ostatnich trzech dekad wrosła ponad dwukrotnie. Nowotwory jajnika w Polsce stanowią 5% wszystkich zachorowań wśród kobiet. W populacji kobiet w ciągu ostatnich trzydziestu lat standaryzowane współczynniki zachorowalności wzrosły o około 60%. Rak jajnika jest jednym z najbardziej zabójczych nowotworów atakujących kobiety. W 2012 r. na całym świecie zdiagnozowano łącznie ok. 239 tys. nowych zachorowań i odnotowano prawie 152 tys. zgonów z jego powodu. Nowotwór ten jest najczęściej diagnozowany w późnym stadium zaawansowania, co znacznie zmniejsza szansę na jego wyleczenie. Pięcioletni wskaźnik przeżycia dla chorych w I stadium choroby wynosi 80-90%, spada natomiast do 15-30% w przypadku chorych w IV stadium zaawansowania. Przyczyną późnego rozpoznawania raka jajnika jest bezobjawowy przebieg choroby w jej początkowych stadiach, a także nieswoistość pojawiających się później objawów, które często są mylone z innymi schorzeniami.

Podjęcie badań podstawowych dotyczących możliwości zastosowania wirusów do zwalczania wybranych nowotworów jest zadaniem bardzo ambitnym wymagającym ogromnej wiedzy i doświadczenia. Wymaga doskonałego opanowania warsztatu badawczego. Realizacja tak ambitnego celu możliwa jest w nielicznych wyspecjalizowanych ośrodkach. Mimo, że w terapiach z zastosowaniem wirusów onkoliza jest podstawowym sposobem eliminacji nowotworu, to wzrastająca ilość publikacji wskazuje, że wirusy dodatkowo stymulują odpowiedź immunologiczną skierowaną nie tylko przeciwko istniejącym klonom nowotworowym, lecz także utrudniając późniejsze namnażanie się komórek w trakcie nawrotu choroby. Indukowana przez wirusy odpowiedź immunologiczna

w znaczącym stopniu wpływa na skuteczność onkowirotepii. Nadmierna stymulacja odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko samemu wirusowi może przynieść jednak niepożądane skutki uboczne. Tak więc właściwa modulacja tej odpowiedzi jest zadaniem niezwykle trudnym.

Część wprowadzająca pracy zaczyna się od charakterystyki raka jajnika. Myślę, że uwypuklenie heterogenności nowotworu jest dobrym motywem wprowadzającym, podkreślającym złożoność walki z nowotworami. Rak jajnika (podobnie jak większość innych nowotworów) jest heterogeny i nie należy oczekiwać pojawienia się terapii uniwersalnej. Właśnie dlatego poszukiwania coraz to nowych terapii, które mogą być skuteczne w określonych wariantach choroby jest takie ważne. W dalszej części wstępu poruszane są zagadnienia związane z rozprzestrzenianiem się nowotworu.

Rozdział: „Immune signatures in the diagnosis of ovarian cancer” zawiera przegląd markerów biochemicznych oznaczanych w różnych stadiach choroby: (CA-125, CRP, interleukiny). W tej sytuacji lepszym wyróżnikiem tego fragmentu tekstu było by: „Biochemical signatures in the diagnosis of ovarian cancer”. Zresztą własności immunologiczne komórek RJ i ich interakcje z komórkami układu immunologicznego opisane są wyczerpująco w następnym rozdziale: „Immunity in disease progression”.

Kolejny fragment poświęcony jest szlakom sygnałowym w RJ ze szczególnym uwzględnieniem osi chemokiny CXCL12 i jej receptora CXCR4. Szczegółowy opis funkcji biologicznej chemokin w rozwoju nowotworów jest istotnym elementem przybliżającym koncepcję pracy. Po fragmencie opisującym uznane strategie leczenia RJ następuje bardzo ciekawie napisany podrozdział poświęcony użyciu wirusów w terapii onkolitycznej. Ten fragment tekstu napisany jest wzorowo - w sposób ogólny i mógłby być szkieletem samodzielnej popularnonaukowej pracy przeglądowej. Fragmenty tekstu poświęcone biologii wirusa krowianki zręcznie spinają rozległy tekst wstępu i prowadzą do logicznie sformułowanego celu pracy. Wyodrębnione w ogólnym celu pracy zadania szczegółowe są obszerne, ambitne i każde z nich mogłoby być przedmiotem osobnej rozprawy.

Rozdział materiały i metody stanowi zwięzły i precyzyjny przegląd stosowanych technik badawczych wraz z odpowiednim piśmiennictwem. Daje on wyobrażenie o wysokich umiejętnościach doktoranta i doświadczeniu, jakie musiał zdobyć w celu prowadzenia tak złożonych eksperymentów. Warto także zwrócić uwagę, że niektóre z użytych modułów nie są dostępne komercyjnie i zostały pozyskane w wyniku współpracy z najlepszymi ośrodkami naukowymi. Informacje dotyczące pochodzenia niektórych plazmidów umieszczone są bezpośrednio w wynikach.

Wyniki to najlepsza część dysertacji. Są napisane w sposób zwięzły, precyzyjny i stanowią odzwierciedlenie stylu Autora. Wszystkie wyniki są na bieżąco dyskutowane w zestawieniu ze starannie wybranym i często najnowszym piśmiennictwem (13 referencji pochodzi z roku

2015 a 5 z roku 2016). Bieżące komentowanie wyników jest to moim zdaniem jedynym sposobem przedstawienia tak bogatych i złożonych osiągnięć. Omawiając wyniki, Autor poddaje je krytycznej dyskusji, zauważając możliwe komplikacje i działania uboczne. Jestem pod ogromnym wrażeniem uzyskanych wyników i szerokiej wiedzy Doktoranta. W celu ułatwienia analizy wyników eksperymentów zamieszczono wiele czytelnych, starannie wykonanych i opisanych rycin. Na uwagę zasługuje ogromny zakres prowadzonych eksperymentów. Obejmują one prace projektowe na poziomie manipulacji genomem wirusa, weryfikacje jego aktywności onkolitycznej w hodowlach komórkowych *in vitro*, a także eksperymenty *in vivo* na modelu mysim. W mojej karierze nie spotkałem się z rozprawą doktorską obejmującą tak szeroki i zróżnicowany zakres eksperymentów.

Żadna praca nie jest doskonała. Z obowiązku recenzenta chciałem zwrócić uwagę na kilka usterek technicznych, które jednak nie wpływają na wysoki poziom merytoryczny dysertacji. Właściwe zrozumienie obszernego tekstu utrudniają szeroko stosowane skróty, których jednokrotne rozszyfrowanie umieszczone jedynie w obszernym 5 – o stronicowym wykazie skrótów na str. 9 jest. Taki bardzo precyzyjny i zamknięty styl jest charakterystyczny dla ograniczonych objętościowo opracowań naukowych. Jednak, jako człowiek, który znaczną część swojej aktywności zawodowej poświęca dydaktyce, chętniej widziałbym pewne ustępstwa stylistyczne ułatwiające odbiór opracowania.

Uwagi te są listą życzeń związaną z moimi osobistymi preferencjami, które trudno pogodzić ze stylem publikacji forsowanym przez czasopisma. Należy podkreślić, że niektóre wyniki badań z dysertacji zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania, a zwiędza je publikacja w *Molecular Therapy — Oncolytics*. Publikacja wyników badań, będących osią dysertacji w recenzowanych czasopismach o światowym zasięgu, stanowi obiektywny miernik wysokiego poziomu merytorycznego prowadzonych badań. Przedstawiona do recenzji dysertacja jest pracą wartościową o znaczących implikacjach praktycznych, opartą na ciekawej koncepcji, oraz świadcząca o rzetelnej wiedzy Doktoranta i Jego pracowitości. Wnosi nowe informacje do wiedzy dotyczącej biologii nowotworów i celowanej terapii przeciwnowotworowej z zastosowaniem rekombinowanego wirusa krowianki. Uzyskane wyniki świadczą, że terapia przeciwnowotworowa oparta na zastosowaniu onkolitycznego wirusa krowianki z wbudowanym genem terapeutycznym kodującym antagonistę receptora CXCR4 (OVV-CXCR4-A-Fc) reprezentuje nową, o szerokim spektrum działania, strategię w leczeniu agresywnych wariantów raka jajnika.

Rewolucyjne technologie związane z walką z chorobami nowotworowymi ewoluują od wielu lat. Ich efektem jest powstanie innowacyjnych strategii terapeutycznych. Jedną z nich jest innowacyjna wirusoterapia onkolityczna, która doczekała się w niektórych przypadkach III etapu badań klinicznych. W pracy przedstawiono i przedyskutowano ciekawe wyniki eksperymentów dotyczących tego zagadnienia. Wyniki eksperymentów są bardzo obiecujące, jak zwykle jednak budzą więcej pytań niż odpowiedzi. Pokazują, że wyniki badań

w istotny sposób zależą od wybranego modelu eksperymentalnego, zachęcając tym samym do dalszych badań i dyskusji.

Znaczne fragmenty dysertacji zostały już opublikowane w międzynarodowych czasopismach a udział doktoranta w powstawaniu tych prac nie budzi wątpliwości. Jest to zgodne z najnowszymi trendami i duchem zmodyfikowanej procedury uzyskiwania stopnia naukowego doktora. Podsumowując, przedstawiona do recenzji praca wnosi nowe informacje związane z zastosowaniem wirusoterapii w leczeniu chorób nowotworowych i spełnia wymagania art.13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki (Dz. U. z 2014r, Nr 0, poz. 1852, z późn. zm.) Z pełnym zatem przekonaniem przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Zdrowia Publicznego Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie, wniosek o dopuszczenie mgr. Marcina Komorowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo, biorąc pod uwagę wysoki merytoryczny poziom pracy, jej zakres i usadowienie w centrum toczących się aktualnie badań naukowych związanych z walką z nowotworami, wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Zdrowia Publicznego o wyróżnienie przedstawionej mi do recenzji dysertacji.

Kraków, 3 kwiecień 2017

K I E R S W N I K
Zakładu Diagnostyki Medycznej


Dr hab. Ryszard Drożdż