



Lublin, 2 października 2022



Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	06-10-2022
L. dz. RN-BM/	1600

VLDI:
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE
Przewodnicząca
A Malon
prof. dr hab. Agnieszka Haloń

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Ślęzak

pt. „Ocena reaktywności przeciwwirusowej materiału przeszczepowego w odniesieniu do powikłań po transplantacji komórek hematopoetycznych”

Zabiegi transplantacji komórek krwiotwórczych stały się w ostatnich latach rutynowymi procedurami medycznymi a wskazania do ich stosowania są określane jako standard postępowania w niektórych chorobach nowotworowych oraz wrodzonych i nabytych nie-nowotworowych schorzeniach układu krwiotwórczego, odpornościowego i niektórych innych chorobach rzadkich. Ze względu na wciąż rosnącą liczbę takich procedur obserwujemy też coraz więcej związanych z nimi powikłań, wśród których jedno z czołowych miejsc zajmują zakażenia wirusowe. Pomimo postępu, jaki dokonał się w diagnostyce oraz dostępności farmakoterapii w większości tych zakażeń, mogą być one przyczyną niepowodzenia procedury z powodu braku współpracy układu immunologicznego biorcy przeszczepu komórek krwiotwórczych. Mimo postępu jaki dokonał się w zakresie poznania zjawiska immunorekonstrukcji po transplantacji komórek krwiotwórczych mechanizmy immunologiczne obrony przeciwwirusowej wymagają dalszych badań. W tym kontekście, temat badań podjęty przez Doktorantkę jest aktualny, nowatorski i ważny zarówno z punktu widzenia poznawczego jak i możliwości zastosowania wyników badań w praktyce.

Praca doktorska mgr Aleksandry Ślęzak jest podzielona na 13 rozdziałów i obejmuje 117 stron, w tym spis skrótów, spis tabel i rysunków. Poszczególne części pracy są przedstawione w sposób typowy dla rozpraw doktorskich

We 28-stronicowym wstępie Doktorantka zwięźle opisała i sklasyfikowała procedury przeszczepienia komórek krwiotwórczych u dzieci i szczegółowo opisała kinetykę

immunorekultywacji różnych subpopulacji limfocytów. Paragraf poświęcony powikłaniom koncentruje się na powikłaniach infekcyjnych, co jest zgodne z tematyką rozprawy, autorka omawia też chorobę przeszczep przeciwko gospodarzowi, w tej części brak moim zdaniem wzmianki o powikłaniach toksycznych biorąc pod uwagę fakt, że toksyczność jest ważną przesłanką do zastosowania terapii komórkowych zamiast często bardziej toksycznych farmakoterapii. Zwróciło moją uwagę syntetyczne i oparte o aktualne piśmiennictwo przedstawienie epidemiologii zakażeń wirusem cytomegalii, wirusem Ebstein-Barr i adenowirusem u pacjentów pediatrycznych poddawanych przeszczepieniu komórek krwiotwórczych

Paragraf opisujący terapię limfocytami T wirusowo-specyficznymi dobrze podsumowuje przesłanki stojące za tą metodą leczenia, takie jak toksyczność tradycyjnego leczenia, koszty leków i wydłużenie okresu hospitalizacji.

Cele pracy zostały sformułowane dość ogólnie, ale dobrze określają kierunek prowadzonych badań.

Charakterystyka grupy badanej została przedstawiona w postaci czytelnej tabeli w której wymienione zostały czynniki, których związek z badanymi limfocytami wirusowo-specyficznymi był przez autorkę analizowany. Wątpliwość budzi zakwalifikowanie do analizy pacjentów, u których „pomiarzy zostały odrzucone, ze względu na techniczny brak możliwości analizy”. Dodatkowo, jak wynika z dalszej części pracy limfocyty wirusowo-specyficzne badano w materiale przeszczepowym a nie u pacjentów, co należy skorygować w tekście na stronie 32.

Na szczególne podkreślenie zasługuje nowatorska koncepcja badania liczby limfocytów wirusowo-specyficznych w materiale przeszczepianym pacjentom i analiza jak wpływa ona na wystąpienie zakażeń po transplantacji. Dobrze wpisuje się ona w koncepcję planowanej, i pilotażowo opisywanej w rozprawie, terapii komórkowej u pacjentów z zakażeniami adenowirusowymi opornymi na inne, konwencjonalne metody leczenia

Metodyka izolacji limfocytów, ich stymulacji oraz analizy cytometrycznej badanych komórek została w mojej ocenie dobrana zgodnie z aktualnym stanem wiedzy i opisana w sposób umożliwiający weryfikację uzyskanych wyników. Na podkreślenie zasługuje czytelne opisanie strategii bramkowania, służącej wyodrębnieniu badanych przez Doktorantkę limfocytów. Zastosowane testy statystyczne są odpowiednie do odpowiedzi na postawione hipotezy badawcze.

Wyniki zostały przedstawione na 39 stronach i podzielono je na logiczne podrozdziały. Czytelnie, na wykresach Doktorantka zaprezentowała dane kliniczne dotyczące grupy badanych pacjentów takie jak rekonstrukcja podstawowych subpopulacji limfocytów, częstość replikacji wirusowych oraz ostrej i przewlekłej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD). Obserwacja o częstszym występowaniu aGVHD u młodszych dzieci jest kontrowersyjna w aspekcie publikowanych dotychczas danych. Ważną częścią wyników jest tabela 10, pokazująca odsetek powikłań u pacjentów z chorobami nowotworowymi i nienowotworowymi. Szkoda, że autorka nie

pokazała, czy różnice są istotne statystycznie. Bardzo interesująca jest również analiza wpływu rodzaju kondycjonowania oraz ew. stosowania terapii limfodeplecyjnej na rekonstrukcję immunologiczną oraz wystąpienie zakażeń lub replikacji wirusa (Autorka używa tych określeń zamiennie, co w mojej opinii nie jest do końca zgodne z aktualnym stanem wiedzy). Za najciekawsze i unikalne uważam wyniki badania w materiale przeszczepowym liczby limfocytów reaktywnych wobec wirusów CMV, EBV i ADV w subpopulacjach CD4+ i CD8+, zaprezentowane w tabeli oraz na ilustrującym zależności pomiędzy aktywnościami przeciwko poszczególnym wirusom diagramie Venna. Wykryty związek pomiędzy odsetkiem limfocytów o reaktywności przeciw wirusowi CMV i replikacją tego wirusa w badanej grupie był zgodny z oczekiwaniami, ale w przypadku wirusa EBV i ADV uzyskano wyniki odwrotne,

Zawarta na 14 stronach dyskusja jest napisana starannie, z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na drobne błędy stylistyczne do korekty przy publikacji pracy (str 80 „ przedmiotem badań były badania...”). Autorka podsumowuje w niej własne wyniki i w mojej ocenie umiejętnie konfrontuje je z dostępnym piśmiennictwem. Należy docenić ostrożność w ocenie przez Doktorantkę wyników, które są kontrowersyjne i słusznie sugeruje ich weryfikację na większej grupie pacjentów i innymi metodami badawczymi. W mojej ocenie najbardziej wartościowa jest część dyskusji poświęcona terapiom komórkowych limfocytami wirusowo-specyficznymi przedstawiona na podstawie dostępnych w piśmiennictwie wyników badań przedklinicznych i klinicznych. Autorka umiejętnie pokazuje zarówno zalety jak i ograniczenia tej metody leczenia oraz wykazuje się znajomością rozwiązań technicznych takich jak urządzenia do wzbogacania komórek w obiegu zamkniętym oparte o technikę CCS.

Na podstawie przeprowadzonych badań Autorka wyciągnęła 4 wnioski, które wynikają z przeprowadzonych badań i odpowiadają na postawione w pracy cele. Jedyne wnioski 3. wydaje mi się nieprecyzyjne i obecnym brzmieniem nieco sprzeczny z wnioskiem 2. Wydaje się, że powinien określać, że dotyczy wirusów EBV i ADV.

Piśmiennictwo obejmuje 114 pozycji, wszystkich anglojęzycznych i opublikowanych w ostatnich latach, odpowiednio dobranych i wykorzystanych w pracy. Bibliografia pochodzi z wiodących czasopism medycznych z dziedziny, transplantologii, immunologii i chorób infekcyjnych. Rozprawę uzupełnia streszczenie w języku polskim i angielskim.

Doktorantka wykazała się umiejętnością formułowania i rozwiązania aktualnego problemu badawczego z zastosowaniem nowatorskiej koncepcji badań materiału przeszczepowego, uzyskała interesujące wyniki oraz przedstawiła dobrą znajomość problematyki prowadzonych badań. Rozprawa jest dobrze przygotowana pod względem stylistycznym, chociaż doktorantka nie ustrzegła się drobnych błędów edytorskich, co w niczym nie umniejsza wartości pracy.

Podsumowując, Autorka opanowała umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Rozprawa doktorska mgr Aleksandry Ślęzak stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych

i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz 595, z późniejszymi zmianami) stawiane pracom na stopień naukowy doktora. Przedstawioną rozprawę doktorską oceniam pozytywnie i wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie mgr Aleksandry Ślęzak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Drabko