



**INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ**  
im. Ludwika Hirszfelda  
Polska Akademia Nauk

ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław  
tel. (4871) 373 2274, (4871) 373 2316, fax: (4871) 373 2587  
<http://immuno.iitd.pan.wroc.pl>

---

Wrocław, 19.03.2020

**Ocena rozprawy doktorskiej lek. Małgorzaty Janeczko-Czarneckiej  
zatytułowanej: „Analiza rekonstytucji immunologicznej u dzieci po  
allogenicznej transplantacji komórek hematopoetycznych z uwzględnieniem  
licznych czynników ja modyfikujących”**

Promotorzy pracy: prof. dr hab. Krzysztof Kałwak, dr hab. Marek Ussowicz  
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu  
Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej

Prawidłowa odnowa hematologiczna po alogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych jest niezwykle istotnym czynnikiem wpływającym na losy pacjenta poddanego tego typu transplantacji. Zapewnia ochronę przed patogenami ograniczając rozwój infekcji (wirusowych, bakteryjnych, grzybiczych), pomaga kontrolować reakcje przeszczep-przeciwko-gospodarzowi (GvH) czy przeszczep przeciwko białaczce/nowotworowi (GvL/GvT), a w efekcie przekłada się na wolne od choroby przeżycie pacjenta. W pierwszych dniach po przeszczepieniu układ immunologiczny jest znacznie upośledzony a za ochronę odpowiedzialne są przeszczepione limfocyty T dawcy. Funkcję tę z czasem przejmują pojawiające się stopniowo w krwioobiegu biorcy różne subpopulacje komórkowe - granulocyty, monocyty, makrofagi komórki NK, limfocyty T i B. Powstające wówczas na drodze zależnej od grasicy naiwne limfocyty T charakteryzują się szeroką specyficznością antygenową.

Wiele czynników ma wpływ na tempo odnowy immunologicznej. Należą do nich, między innymi, liczba przeszczepionych komórek CD34+ i limfocytów T (CD3+), rodzaj przeszczepienia, wiek pacjenta, status wirusologiczny dawcy i biorcy, protokół kondycjonowania czy zastosowana profilaktyka choroby GvH. Tak ważną z klinicznego punktu widzenia tematyką, jaką jest wpływ różnych czynników na aktywność limfopoetyczną grasicy oraz związki poprzyszczepowych powikłań z odnowią limfocytarną po transplantacji komórek pochodzących od alogenicznego dawcy, postanowili się zająć Doktorantka i Jej Promotorzy.

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. Małgorzaty Janeczko-Czarneckiej została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Krzysztofa Kałwaka oraz dr hab. Marka Ussowicza. Przygotowano ją w formie monotematycznego cyklu publikacji, zgodnie z nowym trybem przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich. Do rozprawy włączono trzy prace, spójne pod względem tematycznym. Wszystkie zostały napisane w języku angielskim. Dwie z nich to prace opublikowane w 2016 i 2019 r. w *Central European Journal of Immunology* o sumarycznym czynniku wpływu IF=2,231 (45 pkt. MNIŚW/KBN). Trzecia praca została opublikowana w 2019 w *Transplantation Proceedings* (IF=0,959, 40 pkt. MNIŚW/KBN). Łączna punktacja za cykl to sumaryczny współczynnik wpływu IF=3,19 oraz 95 pkt. MNIŚW/KBN. We wszystkich pracach p. Małgorzata Janeczko-Czarnecka jest pierwszym autorem. W dwóch z nich, opublikowanych w 2019 roku, pełni również funkcję autora korespondującego.

Opublikowanie wyników badań w anglojęzycznych czasopismach naukowych jest dodatkowym dowodem na poprawność i atrakcyjność tematyczną podjętych badań.

Autorka dołączyła także odpowiednie oświadczenia współautorów publikacji - klinicystów, statystyka i pracowników laboratoryjnych. Zgodnie z przedłożonymi dokumentami udział p. Małgorzaty Janeczko-Czarneckiej w przygotowaniu każdej z ww. prac wchodzących w skład cyklu publikacji oszacowano na 50% i polegał on na: „przygotowaniu koncepcji i projektu badania, gromadzeniu, zestawianiu, analizie i interpretacji danych oraz napisaniu artykułu”. Udział pracowników laboratoryjnych, polegający na „gromadzeniu danych laboratoryjnych i technicznym wykonaniu analiz laboratoryjnych we wszystkich pracach” oszacowano na 5%. Natomiast udział obu promotorów, jakim było krytyczne zrecenzowanie i ostateczne zatwierdzenie artykułów, wynosił po 20% lub 25%. W jednej z prac analiza statystyczna danych wykonana przez kolejną osobę została oszacowana na 15%. Dokumenty te potwierdzają istotny wkład p. Janeczko-Czarneckiej w przygotowanie wszystkich trzech publikacji.

Publikacja 1 (CEJI 2019) dotyczy roli grasicy w odnowie immunologicznej po alotransplantacji u dzieci. Badania prowadzono analizując u 52 pediatrycznych biorców bezwzględną liczbę komórek RTE (ang. *recent thymic emigrants*) definiowanych jako liczbę komórek CD31+ w populacji naiwnych limfocytów T pomocniczych (CD3+/CD4+/CD45RA+) w 6 punktach czasowych (przed oraz w 15, 30, 60, 90 i 180 dniu po przeszczepieniu) w doniesieniu do parametrów klinicznych (takich jak: choroba podstawowa, rodzaj przeszczepu, źródło komórek do transplantacji, wiek dawcy i biorcy przeszczepu, rodzaj kondycjonowania, profilaktyka GvH, reaktywacje wirusowe, wystąpienie ostrej i przewlekłej postaci choroby GvH, liczba przeszczepionych komórek CD34+). Zaobserwowano negatywną korelację wieku biorcy z liczbą RTE oraz gorszą funkcję grasicy (i) u biorców z chorobą nowotworową, (ii) w przypadku mieloablacyjnego warunkowania, (iii) po przeszczepie od niespokrewnionego dawcy, (iv) w przypadku



zastosowania ATG jako profilaktyki choroby GvH, (v) u biorców z objawami (szczególnie nasilonymi) choroby GvH.

Publikacja 2 (CEJI 2016) poświęcona jest analizie wpływu reaktywacji wirusem cytomegalii (CMV) i Epsteina-Barr (EBV) na odnowę immunologiczną. Badania prospektywne przeprowadzono u 86 pacjentów oceniając profil i kinetykę odnowy subpopulacji limfocytów T (CD3+), T pomocniczych (CD3+CD4+), T cytotoksycznych (CD3+CD8+), limfocytów B (CD19+) i komórek NK (CD3-CD56+). Stwierdzono, iż niższy odsetek limfocytów T CD3+CD8+ sprzyja reaktywacji CMV, infekcja CMV stymuluje subpopulację limfocytów cytotoksycznych, co może skutkować podwyższonym ryzykiem rozwoju jelitowej postaci ostrej choroby GvH, z kolei zastosowanie ATG i szybka rekonstrukcja limfocytów B sprzyja reaktywacji EBV.

Publikacja 3 (Transpl Proc 2019) to bardzo ciekawy, z immunologicznego punktu widzenia, opis przypadku pacjenta cierpiącego na celiakię z chorobą ziarniniakową, u którego po podaniu komórek krwi pępowinowej pochodzących od częściowo zgodnego brata doszło do indukcji tolerancji na gluten.

Oprócz ww. publikacji i oświadczeń wszystkich autorów publikacji rozprawa zawiera streszczenia wraz z omówieniem poszczególnych prac w języku polskim i angielskim oraz biografię obejmującą 26 pozycji literaturowych. Przytaczane prace zostały opublikowane w latach 1989 – 2018. Te najstarsze dotyczą głównie podstawowych informacji na temat odnowy immunologicznej i regeneracji limfocytów T po transplantacji, te najnowsze natomiast przedstawiają, na przykład, opinie na temat nowatorskich terapii stosowanych w leczeniu celiakii czy udziału mikroflory jelitowej w rozwoju tej choroby. Dobór ten uważam za odpowiedni.

Ponieważ rozprawa doktorska oparta jest o cykl prac opublikowanych w recenzowanych, anglojęzycznych czasopismach posiadających IF, moja rola jako recenzenta jest stosunkowo ograniczona. Ich wyniki zostały już wcześniej ocenione przez grono ekspertów, recenzentów publikacji. Podobnie poprawność formalno – językowa, stylistyczna i interpunkcyjna prac została zweryfikowana przez redakcje czasopism przyjmujących je do druku. Niemniej jednak pozwalam sobie zamieścić kilka pytań, które nasunęły mi się czytając publikacje Doktorantki.

Publikacja 1 (CEJI 2019)

1. W jaki sposób można wytłumaczyć obserwowane na wykresach 2-6 szczególnie istotne różnice w liczbie RTE w 30 dniu po przeszczepieniu?

2. Czy zależność przedstawioną na wykresie 7 (korelacja liczby RTE z wiekiem biorcy w 180 dniu) obserwowano również 30 dni po transplantacji?
3. Jakiego typu eksperymentalne strategie wykorzystywane są do pobudzenia funkcji grasicy?

Publikacja 2 (CEJI 2016)

4. W jaki sposób analizowano reaktywację EBV (wspomniano o metodzie PCR)?

Publikacja 3 (Transpl Proc 2019)

5. Jakie były wyniki typowania HLA dawcy i biorcy przeszczepu? Na jakim poziomie przeprowadzono typowania? Pełniej informacji nie znalazłam w publikacji. Podano, iż dawca i biorca byli zgodni w 9/10 alleli HLA, niezgodność dotyczyła *locus* HLA-A (A8\*02 vs A\*32), pacjent miał DQB1\*02:01.
6. W jaki sposób określano poprzyszczepowy chimeryzm (wykres 1) (% dawcy w populacji limfocytów T i komórek krwi obwodowej)?
7. W jak wielu przypadkach (obserwacje własne, opisane w literaturze) obserwuje się ustąpienie towarzyszącej choroby autoimmunologicznej po alogenicznym przeszczepieniu?

Wniosek końcowy (konkluzja)

Podsumowując, pracę lek. Małgorzaty Janeczko-Czarneckiej oceniam wysoko. Przygotowując rozprawę doktorską wykazała się szeroką wiedzą teoretyczną, umiejętnością pracy koncepcyjnej oraz krytycznej analizy i interpretacji wyników badań laboratoryjnych w odniesieniu do danych klinicznych, jak również prezentacji, opisu i dyskusji otrzymanych wyników.

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. Małgorzaty Janeczko-Czarneckiej pt. „Analiza rekonstytucji immunologicznej u dzieci po alogenicznej transplantacji komórek hematopoetycznych z uwzględnieniem licznych czynników ją modyfikujących” spełnia warunki określone w art. 13 ust 1. ustawy 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 późn. zm.).

Wniosuję zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Małgorzaty Janeczko-Czarneckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie z uwagi na ciekawą problematykę badań, interesujące wyniki oraz ich uznanie przez szersze grono naukowe, czego wyrazem są załączone publikacje w czasopismach naukowych posiadających IF, wniosuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

prof. dr hab. Katarzyna Bogunia-Kubik