



Klinika Hematologii, Onkologii i Transplantologii Dziecięcej
II Katedry Pediatrii, Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Uniwersytecki Szpital Dziecięcy, ul. Prof. Antoniego Gębali 6, 20-093 Lublin
Tel: 81 7185519 fax: 81 7477220 e-mail: katarzynadrabko@umlub.pl

Lublin, 4 listopada 2020

Ocena
rozprawy doktorskiej mgr Kornelii Gajek
pt. „Analiza ekspresji receptorów TLR po allogenicznym przeszczepieniu szpiku u dzieci”

Transplantacje komórek krwiotwórczych od czasu pierwszego zastosowania w połowie ubiegłego wieku nieustannie ewoluują, a postęp czyniony w poszczególnych elementach tego procesu sprawia, że szanse odniesienia z niej wymiernej korzyści przez pacjenta rosną. W ostatnich latach największy postęp dokonał się w dziedzinie immunodiagnostyki i immunoterapii. Dotyczy to zarówno metod doboru dawcy komórek krwiotwórczych, immunoselekcji komórek przeznaczonych do przeszczepienia jak i rekonstrukcji układu odpornościowego, która moduluje przebieg powikłań infekcyjnych i reakcji przeszczep przeciwko nowotworowi i gospodarzowi. Na naszych oczach dokonuje się też przełom w immunoterapii, gdzie genetycznie modyfikowane limfocyty potrafią skutecznie walczyć z opornymi na chemioterapię białaczkami i chłoniakami. Pomimo tak wyraźnego postępu w tej

dziedzinie działanie ludzkiego układu immunologicznego nadal nie zostało w pełni poznane, w szczególności wzajemne relacje odporności wrodzonej i nabytej wymagają dalszych badań. W tym kontekście, temat pracy podjęty przez Doktorantkę jest aktualny, nowatorski i ważny zarówno z punktu widzenia poznawczego jak i możliwości zastosowania wyników badań w praktyce.

Praca doktorska mgr Kornelii Gajek jest podzielona na 13 rozdziałów i obejmuje 129 stron, w tym spis skrótów, spis tabel i rysunków oraz materiały uzupełniające. Poszczególne części pracy są przygotowane w sposób typowy dla rozpraw doktorskich, przy czym zwraca uwagę staranne i czytelne jej opracowanie graficzne.

We 20-stronicowym wstępie Doktorantka najpierw przedstawiła najważniejsze informacje dotyczące procedury przeszczepienia komórek krwiotwórczych u dzieci. Szczególnie interesujące i dobrze udokumentowane są rozdziały opisujące mechanizmy immunologiczne zaangażowane w występowanie infekcji adenowirusem, wirusem Ebstein-Barr, wirusem cytomegalii oraz poliomawirusami w okresie okołoprzeszczepowym. Wskazuje to na znajomość Doktorantki aktualnego stanu wiedzy na temat immunopatologii zakażeń wirusowych i ich związku z immunorekonstytucją układu odpornościowego biorcy przeszczepu. W rozdziale poświęconym chorobie przeszczep przeciwko gospodarzowi mgr Kornelia Gajek, poza wiedzą na temat patogenezы tego powikłania wykazała się znajomością najnowszych informacji dotyczących roli mikrobiomu jelitowego w patogenezie GvHD. W ostatniej części wstępu Autorka wyczerpująco opisała i dobrze zilustrowała budowę i rolę receptorów TLR w mechanizmach odporności wrodzonej działającym nie tylko przeciwko infekcjom, ale także czynnikiem środowiskowym oraz wpływ punktowych mutacji na ich działanie. W tej części wstępu Doktorantka dobrze uzasadniła na podstawie aktualnej literatury możliwy wpływ receptorów TLR występujących na limfocytach i komórkach

NK na przebieg zakażeń po allogeniczym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych.

Z obowiązku recenzenta chciałam zauważyć, że w tabeli 1, podającej najczęstsze wskazania do przeszczepienia komórek krwiotwórczych u dzieci nie podano źródła, wśród wskazań zabrakło przewlekłej choroby ziarniniakowej a wśród chorób metabolicznych osteopetrozy.

Cele pracy zostały jasno sformułowane i wyznaczają logiczny kierunek prowadzonych badań.

Grupy badane, szczegółowo scharakteryzowane w rozdziale „materiały i metody” różniły się w zależności od rodzaju zastosowanej metody badawczej, ale Doktorantka wyjaśniła wyczerpująco przesłanki do takiego doboru pacjentów, ponadto dotyczą one zbliżonego okresu, w związku z czym nie wydaje się, aby miało to wpływ na uzyskane przez doktorantkę wyniki. Metodyka badań oraz sposoby analizy danych zostały dobrane właściwie do realizacji zamierzonych celów badań, a moją uwagę zwróciły bardzo czytelne, kolorowe ryciny przedstawiające sposób analizy cytometrycznej badanych limfocytów.

Wyniki zostały przedstawione na 50 stronach i podzielono je na logiczne podrozdziały. W części poświęconej wynikom analiz cytometrycznych pozytywnie oceniam rysunki pokazujące ekspresję badanych receptorów TLR równoległe na limfocytach T i komórkach NK co znacznie ułatwia czytelnikowi analizę tej części danych. Przy przygotowaniu pracy do publikacji sugerowałabym jednak zmianę sposobu prezentacji wyników testów Kruskalla-Wallisa oraz analizy korelacji, ponieważ tabele 15-17 są w mojej opinii mało czytelne. Dynamika zmian ekspresji receptorów TLR w przebiegu obserwowanych infekcji wirusowych oraz w zależności od wystąpienia lub nie ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi została przedstawiona w sposób logiczny, chociaż bardzo mała bezwzględna liczba limfocytów, zwłaszcza do doby 90 skłania do pytania na ile obserwowane różnice

potwierdzą się w kolejnych badaniach. Bardzo wartościowe w mojej opinii są wyniki pokazujące polimorfizm genotypów i alleli kodujących receptory TLR. Włączenie tych badań do realizacji postawionych przez Doktorantkę celów badawczych wskazuje na jej rozległą wiedzę z zakresu immunogenetyki oraz umiejętność doboru różnych narzędzi do rozwiązywania problemów badawczych.

Zawarta na 11 stronach dyskusja jest napisana poprawnym językiem, Autorka bez zbędnych powtórzeń odnosi się krytycznie do własnych wyników, umiejętnie konfrontuje je z dostępnym piśmiennictwem i potrafi pokazać dobre strony własnej pracy. O dojrzałości naukowej świadczy pokazanie potencjalnych słabości stosowanych metod cytometrii oraz badań molekularnych w ocenie ekspresji receptorów TLR na limfocytach T i komórkach NK. Tym większe moje uznanie dla Autorki pracy za podjęcie tego słabo opisanego w literaturze a jednocześnie bardzo ważnego tematu. Część dyskusji, którą Doktorantka poświęca roli receptorów TLR w odpowiedzi na zakażenia wirusowe i w wystąpieniu ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi świadczy o znajomości wewnątrzkomórkowych mechanizmów reakcji wirusowych i o umiejętności zastosowania tej wiedzy do interpretacji wyników własnych i z piśmiennictwa, wskazuje też na potencjalne możliwości zastosowania opisywanych mechanizmów jako celu terapeutycznego do planowania nowych sposobów terapii.

Na podstawie przeprowadzonych badań Autorka wyciągnęła 4 wnioski, które odpowiadają na postawione w pracy cele, i są zwięzłym podsumowaniem prezentowanych wyników. Wniosek drugi, wobec wspomnianej wcześniej małej liczby badanych komórek, co wynika ze specyfiki immunorekonstytucji po alloHSCT, w mojej opinii mógłby być sformułowany mniej stanowczo.

Piśmiennictwo obejmuje 166 pozycji, w większości anglojęzycznych i opublikowanych w ostatnich 10 latach, odpowiednio dobranych i wykorzystanych w pracy. Zaletą doboru piśmiennictwa są liczne cytowania

artykułów z prestiżowych zagranicznych czasopism medycznych z dziedziny immunologii, transplantologii i chorób infekcyjnych. Rozprawę uzupełnia streszczenie w języku polskim i angielskim.

Strona edytorska pracy jest staranna. Doktorantka wykazała się umiejętnością formułowania i rozwiązania aktualnego problemu badawczego, uzyskała interesujące wyniki oraz przedstawiła dobrą znajomość problematyki prowadzonych badań. Rozprawa jest dobrze przygotowana pod względem stylistycznym, chociaż doktorantka nie ustrzegła się drobnych błędów redakcyjnych, co w niczym nie umniejsza wartości pracy.

Podsumowując, Autorka dobrze opanowała umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Rozprawa doktorska mgr Kornelii Gajek 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 bardzo pozytywnie i ze względu na ambitny temat oraz nowatorskie metody zastosowane w pracy wnioskuję również o jej wyróżnienie.

Wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie mgr Kornelii Gajek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku



dr hab. n. med. Katarzyna Drabko
pediatra, onkolog i hematolog dziecięcy
transplantolog kliniczny, immunolog kliniczny
PWZ lekarza 4891759