

Łódź, 28.03.2023

Prof. dr hab. n. med. Ilona Kurnatowska

Klinika Chorób Wewnętrznych i Nefrologii Transplantacyjnej

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

ilona.kurnatowska@umed.lodz.pl

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr Nataszy Olszowskiej-Zaremby

„Rola oceny swoistości przeciwciał anty-HLA w analizie ryzyka immunologicznego u potencjalnych biorców alloprzeszczepu nerki”

Promotorzy: dr hab. n. med. Radosław Zagożdżon oraz dr hab. n. med. Jolanta Gozdowska

Przeszczepianie nerek jest najskuteczniejszą metodą leczenia nerkozastępczego, pozwalającą na dłuższe przeżycie i lepszą jakość życia chorych ze schyłkową niewydolnością nerek. Dzięki coraz doskonalszym metodom chirurgicznym oraz terapii immunosupresyjnej znacznie poprawia się wczesne przeżycie nerki przeszczepionej, w mniejszym stopniu również przeżycie długoterminowe. Na wyniki wczesne jak i długoterminową czynność nerki przeszczepionej wpływ ma wiele czynników zarówno tych immunologicznych jak i niezwiązanych z układem odpornościowym. Niewątpliwie dobór immunologiczny dawcy i biorcy, a także przed-transplantacyjna znajomość stopnia uczulenia biorcy ma decydujące znaczenie w powodzeniu przeszczepu. Wpływa nie tylko na sam dobór dawcy i biorcy, ale decyduje również o sile immunosupresji jaką pacjent otrzyma

Klinika Chorób Wewnętrznych i Nefrologii Transplantacyjnej

Katedra Pulmonologii, Reumatologii i Immunologii Klinicznej

Kierownik Kliniki: **Prof. dr hab. n. med. Ilona Kurnatowska**

Ul. Kopcińskiego 22, 90 -153 Łódź
www.umed.pl

po przeszczepieniu, co jest jednym z zasadniczych czynników determinujących czynność przeszczepu oraz czas przeżycia zarówno przeszczepionego narządu jak i często długość życia biorcy. Dobór immunologiczny oraz związana w nim ocena prognostyczna co do czynności nerki przeszczepionej ma szczególne znaczenie zwłaszcza w przypadku dawstwa żywego. Stosunkowo od niedawna weszły do powszechnego użycia w polskim systemie doboru narządowego oraz systemu alokacji nowe metody oceniające stopień immunizacji biorców takie m.in. jak wirtualna próba krzyżowa, gdzie kluczową kwestią jest prawidłowe określenie akceptowalnych i nieakceptowalnych niezgodności HLA poprzez zdefiniowanie punktu odcięcia MFI DSA, powyżej którego wynik badania uważany jest za dodatni. Jak słusznie we wstępie zauważa Autorka, nie ma w tej kwestii zgody klinicystów. Pacjenci oczekujący na KLO mają ocenione anty-HLA z podaniem MFI (mean fluorescence intensity), nie jest jasne czy wszystkie DSA, niezależnie od wartości MFI i swoistości, mogą wywierać niekorzystny wpływ na wynik transplantacji nerki. Często osoba typująca chorych do przeszczepienia widząc dodatnie anty-HLA nie kwalifikuje biorcy obawiając się odrzucania.

Doktoranta w materiale naukowym przedstawionym mi do oceny podjęła się próbę wyjaśnienia wybranych kwestii problematycznych związanych z praktycznym zastosowaniem wirtualnej próby krzyżowej (VXM) w ocenie ryzyka immunologicznego u biorców przed przeszczepieniem nerki, w oparciu o doświadczenia własnego ośrodka transplantacyjnego (Szpital Kliniczny Dzieciątka Jezus w Warszawie) i zasady alokacji obowiązujące w Polsce. Cele pracy są sformułowane trafnie i zachęcają klinicystę do dokładnego przeanalizowania wraz z doktorantką poczynionych obserwacji.

Postawione sobie cele, metody ich realizacji oraz wyniki przeprowadzonych badań i ich analizę Doktorantka umieszcza w dwóch pracach oryginalnych, które stanowią trzon przedstawionej mi do oceny dysertacji, w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Prace ukazały się w renomowanym piśmie o zasięgu międzynarodowym z dużym wskaźnikiem oddziaływania:

Klinika Chorób Wewnętrznych i Nefrologii Transplantacyjnej
Katedra Pulmonologii, Reumatologii i Immunologii Klinicznej

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Irena Kurnatowska

Ul. Kopcińskiego 22, 90 - 153 Łódź
www.umed.pl

1. Olszowska-Zaremba N, Zagożdżon R, Gozdowska J. Accuracy of virtual crossmatch (VXM) prediction of physical crossmatch (PXM) results of donor specific antibody (DSA) in routine pretransplant settings-a single-center experience. *Transpl Immunol* 2022;72:101583. doi:10.1016/j.trim.2022.101583 – IF 2.032; 70 pkt. MNiSW
2. Olszowska-Zaremba N, Gozdowska J, Zagożdżon R. Clinical significance of low pre-transplant donor specific antibodies (DSA) in living donor kidney recipients with negative complement-dependent cytotoxicity crossmatches (CDCXM), and negative flow cytometry crossmatches (FLXM) - A single-center experience. *Transpl Immunol*. 2022;74:101672. doi:10.1016/j.trim.2022.101672– IF 2.032; 70 pkt. MNiSW

Publikacje będące podstawą dysertacji stanowią spójny tematycznie cykl. Dotyczą immunologicznych podstaw doboru narządowego oraz ich wpływu na rokowanie i świadczą o rzeczywistym zainteresowaniu doktorantki tematem, a także znajomości zagadnienia.

Prace przeszły przez gęste recenzenckie sito międzynarodowych ekspertów, co świadczy o ich dużej wartości naukowej. Załączone kopie publikacji Doktoranta poprzedza bardzo obszernym, wyczerpującym wstępem zawierającym wprowadzenie do tematu badań. Należy podkreślić, że ów wstęp dotyczący immunologicznych aspektów oceny biorcy oraz doboru immunologicznego dawcy i biorcy, a także stosowanych w tej ocenie testów, napisany jest w sposób wręcz fenomenalny. Trudne zagadnienia przedstawione są w sposób jasny i zrozumiały, czyta się ten rozdział z wielką ciekawością i przyjemnością. Tak przejrzyste przedstawienie zawiłych meandrów immunologii oraz metodyki badań wprowadzanych od niedawna do rutynowej kwalifikacji biorcy w naszym kraju świadczy o tym, że Doktorantka świetnie w temacie się orientuje i pracuje w diagnostyce immunologicznej na co dzień. Z uwagi na stosunkowo niedawno wprowadzane nowe parametry i nowe metody w ocenie ryzyka immunologicznego przed przeszczepieniem nerki, ich znaczenie oraz porównanie z metodami dotychczas stosowanymi zwłaszcza w

Klinika Chorób Wewnętrznych i Nefrologii Transplantacyjnej
Katedra Pulmonologii, Reumatologii i Immunologii Klinicznej

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Irena Kurnatowska

Ul. Kopcińskiego 22, 90 -153 Łódź
www.umed.pl

sytuacji dawstwa żywego jest istotne z naukowego punktu widzenia, ale też jest nie do przecenienia dla klinicysty.

Na pierwszy postawiony sobie cel: ocenę korelacji pomiędzy poziomem MFI pojedynczych DSA o swoistości dla HLA-A lub -B lub -DR a wynikiem próby krzyżowej metodą cytotoksyczności zależnej od dopełniacza (CDC-XM) oraz próby krzyżowej metodą cytometrii przepływowej (FLXM), Doktorantka odpowiada w publikacji *Olszowska-Zaremba N, Zagożdżon R, Gozdowska J. Accuracy of virtual crossmatch (VXM) prediction of physical crossmatch (PXM) results of donor specific antibody (DSA) in routine pretransplant settings-a single-center experience. Transpl Immunol. 2022;72:101583.* W celu wyjaśnienia interesujących Doktorantkę zależności oceniła Ona wyniki 261 prób krzyżowych CDC-XM oraz 180 FLXM wykonanych w grupie potencjalnych biorców nerki posiadających pojedyncze przeciwciała anti-HLA -A, lub -B, lub -DR swoiste dla potencjalnych dawców zmarłych. Uzyskane wyniki przeanalizowane zostały za pomocą prawidłowo dobranych metod statystycznych, a następnie przedstawione na kanwie dostępnej literatury w ciekawie przeprowadzonej dyskusji. Pracę wieńczy sześć głównych wniosków, z których wynika, że zdolność pojedynczych DSA dla HLA -A, -B, -DR do prognozowania wyniku CDC-XM była mniejsza niż w przypadku FLXM. Przewidywanie zaś wyniku FLXM odbywało się z dobrą dokładnością i wymagało niskiego punktu odcięcia MFI DSA (około 6000). Natomiast prognozowanie wyniku CDC-XM odznaczało się niską dokładnością przy wysokiej wartości optymalnego punktu odcięcia (około 10 000 MFI). Kwartalna aktualizacja wyników anti-HLA ocenianych metodą fazy stałej z wykorzystaniem mikrokulek opłaszczonych antygenami HLA (SAB) po wykonaniu biologicznych prób krzyżowych nie spowodowała istotnej poprawy prognozyki VXM w badanej grupie biorców. To, że Doktorantka wyjaśnia przyczynę zaobserwowanych różnic w jakości prognozyki FLXM i CDC-XM z wykorzystaniem pojedynczych DSA świadczy o dogłębnej znajomości przez nią omawianego zagadnienia. To co jest niezwykle interesujące, to przedstawienie potencjalnych możliwości rozwiązań których wprowadzenie do codziennej praktyki może przyczynić się do zniwelowania niedoskonałości stosowanych metod oceny

Klinika Chorób Wewnętrznych i Nefrologii Transplantacyjnej
Katedra Pulmonologii, Reumatologii i Immunologii Klinicznej

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Irena Kurnatowska

Ul. Kopcińskiego 22, 90-153 Łódź
www.umed.pl

immunologicznej, co może poprawić ocenę immunologiczną biorcy i dobór immunologiczny dawcy i biorcy.

W drugiej pracy mającej za cel ocenę znaczenia klinicznego obecności niskich poziomów DSA w surowicy na podstawie wyników transplantacji w kohorcie historycznej biorców nerki od dawcy żywego z negatywnymi wynikami CDC-XM i FLXM (*Olszowska-Zaremba N, Gozdowska J, Zagożdżon R. Clinical significance of low pre-transplant donor specific antibodies (DSA) in living donor kidney recipients with negative complement-dependent cytotoxicity crossmatches (CDCXM), and negative flow cytometry crossmatches (FLXM) - A single-center experience. Transpl Immunol. 2022;74:101672.*), Doktorantka oceniła, w dużej jak na badanie jednośrodkowe grupie obejmującej tylko biorców, którzy otrzymali nerkę od dawcy żywego, co w Polsce jest rzadkością, obecność anty-HLA ocenionych techniką fazy stałej z wykorzystaniem mikrokulek SAB oraz próby CDC-XM i FLXM. W zależności od wykrytych reaktywności DSA u biorców, wykonano uzupełniające typowanie HLA –DQ, –DP lub –Cw dawców. Następnie w celu oceny wpływu uzyskanych wyników na losy przeszczepu w trzyletnim okresie obserwacji, pacjentów podzielono na trzy grupy: DSA pozytywnych, posiadających przeciwciała anty-HLA niebędące DSA (NDSA – non-donor specific antibody) oraz biorców, u których nie wykazano obecności żadnych przeciwciał anty-HLA. Na podstawie przeprowadzonej analizy Doktorantka wykazała, obecność niskich pre-transplantacyjnych DSA u 33% biorców przeszczepu od dawcy żywego, nie miały one jednak wpływu na wskaźniki uszkodzenia przeszczepu w tym na jego czynność w obserwowanym okresie. W grupie DSA-pozytywnych pacjentów odnotowano jednak tendencję do częstszego występowania przeciwciał *de novo* DSA oraz złożeń C4d w kapilarach około cewkowych (PTC – peritubular capillaries), co powinno skłaniać klinicystów do bardzo uważnego monitorowania biorców, a biorców do szczególnie uważnego przestrzegania zaleceń szczególnie dotyczących leczenia immunosupresyjnego. Impakt kliniczny wykonanej pracy jest ogromny zwłaszcza że dotyczy on dawców żywych. Utrata bowiem nerki przeszczepionej od dawcy żywego ma wymiar podwójny, nie tylko fizyczny, ale i psychologiczny.

Klinika Chorób Wewnętrznych i Nefrologii Transplantacyjnej
Katedra Pulmonologii, Reumatologii i Immunologii Klinicznej

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Ilona Kurnatowska

Ul. Kopcińskiego 22, 90 -153 Łódź
www.umed.pl

Pomimo opublikowania swoich badań w bardzo dobrym i renomowanym piśmiennictwie Doktorantka w sposób bardzo przejrzysty i ciekawy zwięźcza swoją dysertację omówieniem jeszcze raz swoich wyników na tle bardzo dobrze dobranego i aktualnego piśmiennictwa. Zamieszczając jednocześnie swoje celne i cenne spostrzeżenia dotyczące poczynionych obserwacji.

Dysertacja przygotowana jest wzorcowo, zawiera wszystkie elementy typowe dla standardowych prac doktorskich, które nie musiałyby nawet być tak obszerne i szczegółowe biorąc pod uwagę, że trzon przedstawionej do oceny pracy stanowią opublikowane prace oryginalne. Podkreślić należy wartość kliniczną przedstawionego materiału, zwłaszcza że wyniki i przedstawione analizy można implementować na codzienną praktykę kliniczną odnosząc je do obowiązującego, polskiego systemu alokacyjnego narządów.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Nataszy Olszowskiej-Zaremby spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668) wymagane na stopień doktora nauk medycznych. Doktorantka podjęła ważny z punktu widzenia naukowego ale i klinicznego temat badawczy, sformułowała interesujące cele pracy, zastosowała właściwe metody umożliwiające ich realizację oraz wykazała umiejętność wszechstronnej analizy uzyskanych wyników w świetle aktualnej wiedzy i właściwego wnioskowania.

Przedstawiam zatem, Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie mgr Nataszy Olszowskiej-Zaremby do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc ponadto pod uwagę staranność i wszechstronność analizy bardzo szerokiego materiału badawczego, wartość naukową podjętego tematu oraz istotne implikacje kliniczne uzyskanych wyników, z wielką przyjemnością i przekonaniem wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Klinika Chorób Wewnętrznych i Nefrologii Transplantacyjnej
Katedra Pulmonologii, Reumatologii i Immunologii Klinicznej

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Iłona Kurnatowska

Ul. Kopcińskiego 22, 90 - 153 Łódź
www.umed.pl