

Prof. dr hab. n. med. Jerzy R. Kowalczyk



Ocena osiągnięcia naukowego w związku z postępowaniem na stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne. dr n. med. Jarosława Bilińskiego wszczętym przez Radę Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Dr n.med. Jarosław Biliński ukończył studia medyczne w Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w 2013 r. uzyskując dyplom lekarza. Staż podyplomowy odbył w Samodzielnym Publicznym Centralnym Szpitalu Klinicznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, a następnie rozpoczął studia doktoranckie w Katedrze i Klinice Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych WUM. Równocześnie rozpoczął rezydenturę do specjalizacji z hematologii. W 2017 r. uzyskał stopień doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy p.t.: „Kolonizacja jelit przez bakterie antybiotykooporne u chorych na nowotwory układu krwiotwórczego: znaczenie kliniczne i strategia postępowania”. Od 2018 r. jest zatrudniony na stanowisku asystenta Katedrze i Klinice Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych WUM. Dr J.Biliński jest autorem lub współautorem 35 prac opublikowanych w czasopiśmie naukowych, w tym 30 publikacji w czasopiśmie ze współczynnikiem wpływu. Sumaryczny Impact Factor jego prac wynosi 210,528, z czego przed uzyskaniem stopnia doktora 19,089, a po uzyskaniu tego stopnia - 184,915. Punktacja MNiE wynosi łącznie 2929, a Index Hirsha – 8 zarówno wg bazy Web of Science, jak i Scopus. Prace dr J. Bilińskiego były dotychczas cytowane ponad 400 razy.

Habilitant był kierownikiem 7 projektów badawczych finansowanych w ramach uzyskanych grantów. Od początku swojej pracy w Katedrze i Klinice Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych WUM. prowadził zajęcia dydaktyczne z hematologii dla studentów Wydziału Lekarskiego, w tym również dla studentów anglojęzycznych. Ponadto prowadził zajęcia praktyczne w Centrum Symulacji Medycznej oraz seminaria dla lekarzy specjalizujących się w transplantologii klinicznej w ramach kursów specjalizacyjnych (CMKP, CKP WUM). Jest promotorem pomocniczym 2 obecnie wykonywanych prac doktorskich oraz promotorem ukończonej jednej pracy licencjackiej.

Kilkakrotnie został wyróżniony Nagrodą JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej, a także różnych innych

instytucji. Był również laureatem stypendium MNiSW dla młodych wybitnych naukowców (2012 r.) .

Ocena osiągnięcia naukowego składającego się na osiągnięcie naukowe.

Jako osiągnięcie naukowe na stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne. dr n.med. Jarosław Biliński przedstawił mi do oceny cykl obejmujący 5 powiązanych tematycznie oryginalnych prac naukowych opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych. Cykl publikacji został zatytułowany „Znaczenie mikrobioty jelitowej, jej przeszczepiania, preparatyki i parametrów jakościowych w profilaktyce i leczeniu choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi u pacjentów po przeszczepieniu szpiku”.

Wszystkie te prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej o sumarycznym współczynniku wpływu $IF = 42,016$ i sumarycznej punktacji Ministerstwa Edukacji i Nauki = 660 punktów. Trzy spośród ocenianych publikacji mają charakter pełnowymiarowych artykułów oryginalnych, natomiast dwie z nich są w formie listu do redakcji. We wszystkich tych pracach dr J.Biliński jest pierwszym autorem.

Głównym celem przedstawionego cyklu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego było poszerzenie wiedzy w zakresie oceny parametrów mikrobioty jelitowej mających znaczenie przy wytwarzania preparatów mikrobioty w celu uzyskania optymalnych jakościowo i bezpiecznych preparatów do leczenia chorych wysokiego ryzyka, w szczególności aGvHD. Ponadto habilitant podjął próbę stworzenia odpowiedniego protokołu postępowania, a także oceny profilu bezpieczeństwa oraz skuteczności w pilotażowych procedurach przeszczepiania mikrobioty jelitowej w celu leczenia ciężkiej, sterydoopornej postaci aGvHD,

W pierwszej publikacji (*Bilinski J, Dziurzynski M, Grzesiowski P, Podsiadly E, Stelmaszczyk-Emmel A, Dzieciatkowski T, Dziewit L, Basak GW. Multimodal Approach to Assessment of Fecal Microbiota Donors based on Three Complementary Methods. J Clin Med. 2020; 9(7):2036.*) przedstawiono wyniki serii eksperymentów aby prześledzić stabilność składu mikrobioty jelitowej u różnych dawców w czasie i znaleźć najbardziej odpowiednią metodę oceny jakości mikrobioty jelitowej dla prawidłowej selekcji dawców kału i utorowania drogi do znalezienia „super dawców”, w szczególności na potrzeby skomplikowanych patogenetycznie chorób, jak aGvHD. Do niniejszych eksperymentów wykorzystano dziesięć kolejnych stolców przekazanych przez każdego z trzech wyselekcjonowanych wcześniej dawców (łącznie 30 stolców). Dawcami kału byli losowo wybrani 2 mężczyźni oraz celowo wybrany

regularny dawca kału zarejestrowany w polskim banku kału. Analiza metodą cytometrii przepływowej wykazała, że prowadząc eksperyment w warunkach tlenowych, nie było statystycznie istotnych różnic między liczbą komórek żywych, martwych oraz nieznanych w zawiesinach mikrobioty jelitowej przygotowanych z kału dawców. Zaobserwowano zauważalną dominację żywych komórek. Jako drugą metodę oceny mikrobioty – wykorzystano eksperyment z zastosowaniem klasycznych hodowli tlenowych i beztlenowych na różnorodnych podłożach. W sumie stwierdzono 104 gatunki bakterii reprezentujące 36 rodzajów oraz wskazano gatunki bakterii charakterystyczne dla każdego dawcy, gatunki wspólne dla dwóch dawców i wreszcie gatunki, które tworzyły „mikrobiotę rdzeniową” i występowały u wszystkich analizowanych dawców, składającą się tylko z 16 gatunków. Następnie oceniano obecność zidentyfikowanych gatunków w czasie i stwierdzono, że najbardziej trwałym gatunkiem była *Escherichia coli*, którą wykryto we wszystkich próbkach, inne gatunki wykazywały zmienną obecność w poszczególnych dniach. Dlatego też ważne jest powtarzanie pobierania próbek od poszczególnych dawców przez kilka dni. Mikrobiotę pobranych próbek analizowano również przy pomocy techniki NGS i sekwencjonowania regionów V3-V4 16S rDNA bakteryjnego. Na podstawie tego badania i analizy literatury autorzy stwierdzili, że nie ma uniwersalnej metody oceny mikrobioty jelitowej człowieka. Jednak stosowane łącznie metody przedstawione w tym badaniu mogą wygenerować szczegółowy obraz przekroju jakościowego i ilościowego mikrobioty jelitowej dla potrzeb prowadzenia transplantacji mikrobioty jelitowej. Posiewy kału charakteryzują się bardzo dużą zmiennością. Zidentyfikowano „podstawową, rdzeniową mikrobiotę poddającą się hodowli”, która składała się tylko z 16 gatunków. Regularny dawca kału charakteryzował się istotnie statystycznie wyższą zawartością gatunków uznawanych za i ogólna bioróżnorodność oraz stabilność mikrobiomu kału tego dawcy była statystycznie istotnie wyższa niż pozostałych badanych. W ocenie żywotności komórek bakteryjnych wyróżniono trzy grupy komórek: żywe, martwe i nieznane. Populacja „nieznanych” komórek zawierała grupę komórek podwójnie ujemnych (SYTO9-, PI-), które mogą być sporami bakteryjnymi lub ewentualnie bakteriami o bardzo grubej i niepoddającej się łatwej destrukcji ścianie komórkowej. co może być markerem nieprawidłowej mikrobioty. Jednocześnie wykazano, że skryning na dawcę mikrobioty jelitowej ma kolosalne znaczenie biorąc pod uwagę parametry mikrobioty oceniane powyższymi metodami. Każda z tych obserwacji powinna być brana pod uwagę w procesie przygotowywania preparatów dla biorców podwyższonego ryzyka, jakimi są pacjenci z aGvHD .

W następnej pracy, stanowiącej kolejny etap rozwijania metodologii produkcji mikrobioty jelitowej do leczenia pacjentów wysokiego ryzyka (Bilinski J, Dziurzynski M, Grzesiowski P, Podsiadly E, Stelmaszczyk-Emmel A, Dzieciatkowski T, Lis K, Tyszka M, Ozieranski K, Dziewit L, Basak GW. *Fresh Versus Frozen Stool for Fecal Microbiota Transplantation-Assessment by Multimethod Approach Combining Culturing, Flow Cytometry, and Next-Generation Sequencing. Front Microbiol.* 2022; 13:872735) zastosowano wcześniej oceniane metody analizy dwóch rodzajów preparatyki kału – świeżej i po mrożeniu bez dodatku krioprezerwantów przed przetworzeniem. Celem pracy było porównanie jakości preparatów FMT otrzymanych ze świeżego kału z preparatami otrzymanymi z kałów zamrożonych w temperaturze -30°C bez kriokonserwacji i obróbki przed zamrożeniem. Zamrażanie i rozmrażanie całego kału w celu przygotowania zawiesiny mikrobioty jelitowej spowodowało prawie 4-krotne zmniejszenie liczby żywych komórek w próbkach od wszystkich dawców. Uzyskane wyniki pokazały, że zamrażanie całego kału bez żadnego buforu kriokonserwującego znacząco zmienia profil mikrobioty jelitowej. Zmianę tę można wykryć przede wszystkim za pomocą połączenia zastosowanych przez autorów metod, w szczególności dzięki cytometrii przepływowej i hodowlom klasycznym. Cytometria przepływowa z barwieniem komórek wykazała, że zamrażanie powoduje istotne zmiany we wszystkich obserwowanych frakcjach. Liczba żywych komórek spadła czterokrotnie, z około 70% do 15%, podczas gdy w pozostałych dwóch frakcjach (martwe i nieznane), liczba komórek wzrosła, przy czym frakcja nieznana stała się dominująca. Wykazano więc, preparat świeży lub mrożony z dodatkiem kriokonserwantów pozwala na uzyskanie najlepszych jakościowo produktów do podania pacjentom z GvHD. Dodatkowo, konieczny jest bardzo dokładny skryning dawców oraz wytwarzanie preparatu w warunkach beztlenowych aby pacjenci mogli być leczeni produktami bezpiecznymi.

W trzeciej publikacji (Bilinski J, Lis K, Tomaszewska A, Grzesiowski P, Dzieciatkowski T, Tyszka M, Karakulska-Prystupiuł E, Boguradzki P, Tormanowska M, Halaburda K, Waszczuk-Gajda A, Wiktor-Jedrzejcak W, Basak GW. *Fecal microbiota transplantation in patients with acute and chronic graft-versus-host disease-spectrum of responses and safety profile. Results from a prospective, multicenter study. Am J Hematol.* 2021; 96(3):E88-E91.) zespół badaczy podjął próbę oceny wpływu transplantacji mikrobioty jelitowej na przebieg ostrej lub przewlekłej GvHD u pacjentów skolonizowanych bakteriami opornymi na antybiotyki. Łącznie wykonano 16 transplantacji mikrobioty jelitowej u 11 pacjentów z aGvHD i u 2 pacjentów z cGvHD. Wszyscy pacjenci byli skolonizowani bakteriami opornymi na antybiotyki. Ogólny wskaźnik odpowiedzi u pacjentów z aGvHD

osiągnął 57%, w tym całkowita remisja wystąpiła u 42%. Wszyscy pacjenci oporni na leczenie transplantacją mikrobioty jelitowej zmarli w ciągu 200 dni po zabiegu, a mediana przeżycia całkowitego wyniosła 66 dni, podczas gdy u pacjentów z odpowiedzią na leczenie mikrobiotą mediana przeżycia wyniosła 332 dni. Autorzy stwierdzili przy tym, że transplantacja mikrobioty w leczeniu aGvHD jelitowego powinna być wykonywana na wczesnych etapach rozwoju powikłania. Publikacja ta miała charakter pionierski w odniesieniu do zastosowania transplantacji mikrobioty jelitowej w przewlekłej GvHD oraz biorąc pod uwagę liczebność grupy pacjentów z ostrą GvHD.

W kolejnej pracy ocenianego cyklu (*Biliński J, Jasiński M, Tomaszewska A, Lis K, Kacprzyk P, Chmielewska L, Karakulska-Prystupiak E, Mullish BH, Basak GW. Fecal microbiota transplantation with ruxolitinib as a treatment modality for steroid-refractory/dependent acute, gastrointestinal graft-versus-host disease: A case series. Am J Hematol. 2021; 96(12):E461-E46*) zdecydowano się wprowadzić terapię skojarzoną z zastosowaniem ruksolitynibu i mikrobioty jelitowej pacjentom ze sterydooporną /sterydozależną postacią jelitową aGvHD. Było to pierwsze w świecie doniesienie na temat takiej terapii skojarzonej. Zespół dr J.Bilińskiego postanowił podjąć próbę połączenia dwóch mechanizmów działania immunomodulującego – ruksolitynibu oraz plejotropowego oddziaływania antygenowego na układ odpornościowy mikrobioty jelitowej u pacjentów ze sterydooporną lub sterydozależną jelitową postacią aGvHD. Łącznie w 75% przypadków uzyskano całkowite remisje i pilotaż ten wskazał na konieczność prowadzenia dalszych badań tej strategii, w tym randomizowanych. Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że efekt addytywny transplantacji mikrobioty jelitowej w stosunku do ruksolitynibu pozwoli nie tylko zmniejszyć stosowaną dawkę ruksolitynibu, ale także uzyskać dużo lepsze wyniki końcowe. Na podstawie tych wstępnych wyników, zostało zarejestrowane pierwsze badanie kliniczne (NCT04269850).

Ostatnia z ocenianych prac (*Qiao X, Biliński J, Wang L, Yang T, Luo R, Fu Y, Yang G. Safety and efficacy of fecal microbiota transplantation in the treatment of graft-versus-host disease. Bone Marrow Transplant. 2023 Jan;58(1):10-19*) przedstawia wyniki metaanalizy wykonanej w ramach współpracy międzynarodowej, której celem była ocena skuteczności i bezpieczeństwa transplantacji mikrobioty jelitowej w leczeniu GVHD po alloHCT. Łącznie zidentyfikowano 22 publikacje opisujące 23 badania spełniające określone przez autorów kryteria, w tym dwa badania z grupami kontrolnymi. Spośród wszystkich 23 badań włączonych do metaanalizy łącznie 242 pacjentów z GvHD po alloHCT leczono transplantacją mikrobioty jelitowej. Wśród wszystkich pacjentów, którzy otrzymali preparaty

mikrobioty jelitowej, 66,5% odpowiedziało na leczenie, a oszacowany iloraz szans obiektywnej odpowiedzi (OR) wyniósł 5,51. Podsumowując, w tym przeglądzie systematycznym z metaanalizą wykazano, że transplantacja mikrobioty jelitowej ma pozytywny wpływ terapeutyczny na leczenie GvHD. Można ją uznać za bezpieczną i obiecującą metodę leczenia GvHD, ale konieczny jest bardzo ścisły monitoring i nadzór nad pacjentem poddawany tej formie terapii. Ilość podań preparatu, droga podania, częstotliwość i dawka wymagają dalszych badań i standaryzacji.

Podsumowując ocenę osiągnięcia naukowego składającego się na habilitację dr n. med. Jarosława Bilińskiego stwierdzam, że przedstawione mi do oceny publikacje cechują się dojrzałością, głęboko przemyślanymi założeniami, celami i treścią. Bardzo ważną częścią każdej z przedstawionych mi publikacji jest dokładna analiza uzyskanych wyników badań, które autor wraz z współautorami wszechstronnie analizuje na tle piśmiennictwa. Habilitant wykazuje się przy tym dużą dojrzałością naukową, wnikliwością, a także ostrożnością w ostatecznym wyciąganiu wniosków. Realizując cel swoich badań dr n. med. Jarosław Biliński uzyskał szereg interesujących wyników poszerzając wiedzę w zakresie oceny parametrów mających znaczenie przy wytwarzaniu preparatów mikrobioty jelitowej w celu uzyskania optymalnych jakościowo i bezpiecznych preparatów do leczenia chorych wysokiego ryzyka. Ponadto habilitant podjął próbę stworzenia odpowiedniego protokołu postępowania, a także oceny profilu bezpieczeństwa oraz skuteczności w pilotażowych procedurach przeszczepiania mikrobioty jelitowej w celu leczenia ciężkiej, sterydoopornej postaci aGvHD. Wykazał, że zastosowanie różnych metodologii oceny mikrobioty jelitowej dawców daje więcej danych i informacji niż każda metoda z osobna, a zamrażanie całego kału bez żadnego buforu kriokonserwującego znacząco zmienia profil mikrobioty jelitowej i czterokrotnie obniża żywotność komórek bakteryjnych. Transplantacja mikrobioty jelitowej okazała się być obiecującą metodą leczenia chorych ze sterydooporną i sterydozależną aGvHD, z ogólnym odsetkiem odpowiedzi (ORR) wynoszącym 57%. Zaobserwowano addytywny efekt działania transplantacji mikrobioty jelitowej w stosunku do ruksolitynibu co może pozwolić nie tylko zmniejszyć stosowaną dawkę leku w leczeniu drugiej linii aGvHD (niwelując jego działania niepożądane), ale globalnie uzyskać dużo lepsze wyniki końcowe. Optymalnym protokołem leczenia aGvHD wydaje się być połączenie leku immunomodulującego (ruksolitynibu) z transplantacją mikrobioty jelitowej podawanej w sesjach (wielokrotnie) po uprzednim przygotowaniu pacjenta. Niektóre z tych badań zostały opublikowane jako pierwsze, oryginalne obserwacje w piśmiennictwie światowym. Mają one ogromne znaczenie z

klinicznego punktu widzenia jako alternatywny sposób leczenia pacjentów z ostrą postacią choroby przeszczep przeciw gospodarzowi. Istotne jest również to, że wszystkie prace tego cyklu zostały opublikowane w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej. Prace te wzbudzają szerokie zainteresowanie nie tylko w kraju, ale również i zagranicą.

Tak więc z całym przekonaniem stwierdzam, że osiągnięcie naukowe dr n. med. Jarosława Bilińskiego w postaci zestawu 5 publikacji dotyczących znaczenia mikrobioty jelitowej, jej przeszczepiania, preparatyki i parametrów jakościowych w profilaktyce i leczeniu choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi u pacjentów po przeszczepieniu szpiku stanowi znaczący wkład autora w rozwój wiedzy dotyczącej biologii mikrobioty jelitowej i w pełni odpowiada kryterium określonym w art. 219, Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym z dnia 20 lipca 2018 r. (z późn. zm.). Uważam więc, że dr n. med. Jarosław Biliński udowodnił, że jest dojrzałym i samodzielnym pracownikiem naukowym i w pełni zasługuje na nadanie mu stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne. Składam więc Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie dr n. med. Jarosława Bilińskiego do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Lublin, dn. 27.12.2023 r.

Prof. dr hab. n. med. Jerzy R. Kowalczyk