

Prof. UJ dr hab. n. med. Beata Piątkowska-Jakubas
Katedra i Klinika Hematologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
30-688 Kraków ul. Jakubowskiego 2

Recenzja rozprawy Pani mgr Klaudii Nestorowicz- Kałużnej
na stopień doktora nauk medycznych w dziedzinie nauk
medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki o zdrowiu

Tytuł rozprawy: „Immunogenetyczne, kliniczne i organizacyjne wyznaczniki doboru
niespokrewnionych dawców przeszczepu komórek krwiotwórczych dla chorych z chorobami
hematologicznymi”

Promotor: Pan prof. dr hab. n. med. n. zdr. Jacek Nowak

Promotor pomocniczy: Pani dr hab. n. biol. Małgorzata Dudkiewicz

Zgodnie z Uchwałą Nr 226/2019 Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu
Medycznego z dnia 16.04.2019r o powołaniu mnie na recenzenta tej rozprawy mam zaszczyt
przedstawić Wysokiej Radzie swoją opinię.

Wartość celu badawczego.

Autorka sformułowała 4 główne cele badawcze, oraz zawierające się w nich cele szczegółowe:

1. Ocena znaczenia etapu doboru dawców niespokrewnionych w kontekście wyników procedury transplantacyjnej.
2. Określenie istotności czynników, wpływających na wynik transplantacji od dawcy niespokrewnionego. Analizę rozszerzono o określenie wyznaczników immunogenetycznych, biologicznych, klinicznych i organizacyjnych procedur doboru dawców niespokrewnionych oraz ich wpływu na przebieg i wyniki transplantacji oraz ustalenie ich hierarchiczności.
3. Wskazanie czynności organizacyjnych jako istotnego elementu procedury doboru dawcy do allotransplantacji komórek hematopoetycznych.

4. Opracowanie rozszerzonego algorytmu doboru niespokrewnionych dawców komórek krwiotwórczych dla krajowych biorców w oparciu o wyniki analizy i ocenę procedur doboru w wybranych ośrodkach dobierających.

Procedura doboru dawcy komórek hematopoetycznych jest jednym z ważniejszych etapów leczenia nowotworowych chorób układu krwiotwórczego z użyciem metody alotransplantacji komórek hematopoetycznych (allo-HCT). Wybór optymalnego dawcy jest podstawowym warunkiem powodzenia allo-HSCT, wpływającym zarówno na wczesne jak i późne powikłania alotransplantacji komórek hematopoetycznych oraz ryzyko nawrotu. Ostateczny wpływ na wynik zabiegu mają 4 grupy czynników ryzyka:

- związane z biorcą (indeks ryzyka chorób towarzyszących – HCT-CI, wybór siły kondycjonowania)
- związane z chorobą będącą wskazaniem do wykonania allo-HCT tzw. indeks ryzyka choroby (rozpoznanie, stan remisji)
- związane z parą dawca- biorca w kontekście stopnia immunogenetycznej zgodności tkankowej, rodzaju dawcy (rodzinny, niespokrewniony, dawca alternatywny) wieku i płci dawcy (dawca płci żeńskiej podwyższa ryzyko choroby przeszczep przeciw biorcy dla biorcy płci męskiej), serostatusu wirusologicznego pary wobec CMV i EBV oraz zgodności w zakresie głównych grup krwi
- związane z materiałem transplantacyjnym (źródło komórek, parametry ilościowe i jakościowe, manipulacje ex vivo i in vivo).

O ile czynniki związane z biorcą i statusem choroby w chwili transplantacji nie są modyfikowalne to możemy mieć wpływ na optymalizację doboru dawcy, a precyzyjniej mówiąc pary dawca-biorca oraz wybór źródła komórek (szpik, krew obwodowa, jednostki krwi pępowinowej).

Przebieg procesu doboru dawcy jest wieloetapowy i wymaga doskonałej współpracy organizacyjnej i komunikacji pomiędzy ośrodkami zgłaszającymi biorców do allo-HCT i ośrodkami prowadzącymi procedury poszukiwania i dobór dawców oraz ośrodkami pobierającymi materiał transplantacyjny. Istotnym czynnikiem wpływającym na wskaźniki przeżycia chorych (biorców) jest również wykonanie zabiegu w odpowiednim przedziale czasowym, dotyczy to zwłaszcza kwalifikacji ratunkowych u chorych bez remisji lub z ryzykiem jej utraty. Warto wspomnieć, że ośrodki poszukujące dawców niespokrewnionych mają dostęp do światowej bazy dawców prowadzonej przez World Marrow Donor Association (WMDA), w której zarejestrowano ponad 41 milionów dawców.

Doktorantka zaplanowała i sporządziła bazę danych dotyczących immunogenetycznych, klinicznych i organizacyjnych wyznaczników 1131 procedur doboru dawców niespokrewnionych przeprowadzonych w wybranych krajowych ośrodkach dawców oraz dokonała oceny ich wpływu na wyniki transplantacji komórek krwiotwórczych w populacji biorców cierpiących na choroby

nowotworowe układu krwiotwórczego oraz schorzenia nienowotworowe. Praca doktorantki jest pod tym względem pionierska, a zgromadzony obszerny materiał kliniczny z okresu 15 lat (od roku 2001- do roku 2015), pozwolił na opracowanie wyników o dużej sile i wiarygodności. Z punktu widzenia praktyki klinicznej innowacyjnym celem było stworzenie rozszerzonego algorytmu doboru dawców niespokrewnionych z uwzględnieniem hierarchii czynników immunogenetycznych i biologicznych, oraz czynników dodatkowych (rozszerzone typowanie HLA, ocena statusu iKIR oraz obecność DSA (przeciwciał anti-HLA u biorcy) definiujących optymalny dobór.

Algorytm uwzględniający wszystkie możliwe scenariusze procesu doboru dawców i pozwalający na skrócenie czasu doboru nie został dotychczas opublikowany w literaturze.

Kolejnym oryginalnym i wartościowym celem badawczym była ocena czynników organizacyjnych wpływających na proces doboru dawcy w kontekście powodzenia zabiegu allotransplantacji i jego odległych wyników. Dane literaturowe nie są w tym kontekście jednoznaczne, a przyjęte procedury postępowania różnią się w ośrodkach w różnych krajach. Realizacja tego celu może implikować wprowadzenie modyfikacji systemowych w tym procesie.

Poprawność metodyczna i analiza statystyczna.

Analizowano procedury doboru dawców dla 1131 chorych prowadzone w wybranych ośrodkach dawców szpiku w latach 2001-2015 obejmujące: procedury doboru dawców niespokrewnionego dla krajowych biorców, realizowane na zlecenie Centrum Organizacyjno-Koordynacyjnego Poltransplant oraz dane zgromadzone w ramach projektu „Wpływ zakresu rozbieżności sekwencji genetycznej haplotypów głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC) pomiędzy dawcą i biorcą krwiotwórczych komórek macierzystych na zdrowienie oraz bezpośrednie i odległe powikłania potransplantacyjne” (Jednostka finansująca: KBN/MNiSW nr N N402 351138). Dobór i liczebność grupy badanej pozwalała na przeprowadzenie wiarygodnej analizy wpływu jakości doboru pary dawca-biorca na powikłania i wyniki zabiegu przeszczepienia. W grupie 1131 biorców 29,44% stanowili pacjenci pediatryczni, średni wiek analizowanej populacji wynosił 29 lat (mediana 28 lat), odpowiednio 57,74% i 42,17% mężczyzn i kobiet. Okres obserwacji badanej grupy był wystarczająco długi dla ceny wskaźników oceniających skuteczność leczniczą zabiegu, wynosił od 18 dni - 11 lat od chwili transplantacji. Kończącym punktem obserwacji była data ostatniego kontaktu lub zgonu biorcy. W badanej grupie dominowały rozpoznania chorób nowotworowych układu krwiotwórczego N=995, pozostałe rozpoznania hematologiczne dotyczyły N= 83 chorych, a choroby metaboliczne i zaburzenia odporności N= 53 chorych. Podstawowym kryterium doboru pary dawca – biorca była ocena w zakresie antygenów HLA - A, B, C, DRB1, DQB1 na poziomie wysokiej rozdzielczości, oceniano również zgodność w zakresie szerokich haplotypów MHC. W miarę dostępności danych dawców w rejestrach

uwzględniano również biologiczne kryteria doboru: wiek, płeć, grupę krwi, status CMV dawcy oraz liczbę ciąż.

Punktami końcowymi dla analizy przeżycia biorców były przeżycie całkowite (OS, overall survival) oraz przeżycie wolne od nawrotu (RFS, relapse free survival), oceniono także śmiertelność związaną z przeszczepieniem (TRM, transplant related mortality) oraz wskaźnik nawrotów.

Analizę statystyczną badań przeprowadzono w oparciu o prawidłowo wybrane metody.

Pary biorca- dawca opisano za pomocą podstawowych statystyk opisowych, dla oceny korelacji pomiędzy zmiennymi wykorzystano współczynnik korelacji Pearsona.

Do analizy funkcji przeżycia zastosowano estymator Kaplana-Meiera i modele regresji proporcjonalnego hazardu Coxa w celu zbadania powiązań między różnymi czynnikami wpływającymi na wynik transplantacji, a punktami końcowymi oceny (OS, RFS, NRM, RI, aGvHD, cGvHD). Wyniki ostatecznych modeli przedstawiono jako hazard względny (współczynnik ryzyka [HR]) w odniesieniu do kategorii referencyjnej (HR, 1) wraz z 95% przedziałem ufności i wartościami p.

Obliczenia przeprowadzono za pomocą programów Statistica wersja 13 i R wersja 4.2.2 oraz arkusza kalkulacyjnego Excel.

Dane kliniczne dla analizy powikłań i wyników odległych transplantacji zbierano w oparciu o jednolity dla ośrodków transplantacyjnych formularz raportu dotyczącego stanu zdrowia biorcy po przeszczepieniu szpiku kostnego lub komórek macierzystych krwi obwodowej od niespokrewnionego dawcy.

W tym miejscu recenzent pozwala sobie stwierdzić, iż zaplanowanie, zebranie i uporządkowanie tak dużej bazy szczegółowych danych retrospektywnych wymagało tytanicznej pracy, umiejętności operowania dużą liczbą zmiennych oraz dobrego zaplanowania metod statystycznych dla uzyskania wiarygodnych wyników.

Znaczenie naukowe i praktyczne wniosków wynikających z przeprowadzonych badań.

Znaczącym osiągnięciem Doktorantki jest opracowanie spójnego algorytmu doboru dawcy niespokrewnionego do allo-HSCT, wyznaczającego ścieżkę decyzyjną podczas procedury doborowej. Ostateczna akceptacja dawcy należy do zespołu wykonującego zabieg transplantacji komórek krwiotwórczych i warunkuje ją także indywidualna sytuacja biorcy w optymalnym oknie czasowym dla transplantacji. Przedstawiony algorytm może stanowić wsparcie dla takiej decyzji.

Autorka słusznie zwraca uwagę, iż w sytuacji dostępności w rejestrach wielu potencjalnych dawców z oznaczonymi antygenami co najmniej w zakresie HLA – A, B, C, DRB1, DQB1, racjonalna jest jednoczasowa aktywacja dwóch dawców, pozwalająca na szybki dobór dawcy zapasowego. W

praktyce klinicznej oznacza to , że w przypadku zabiegu pilnego lub ratunkowego istnienie takiego dawcy decyduje o przeżyciu chorego. Autorka przedstawiła także rozwiązanie techniczne optymalizujące koszty takiego postępowania.

W pracy potwierdzono, że młody wiek dawcy < 22 roku życia znamienne poprawia wyniki przeżycia całkowitego biorców; przeciwnie, w przypadku dawców powyżej 46 roku życia wskaźnik przeżycia biorców był znamienne niższy (62,30% vs 39,22% , p=0,0055).

Wykazano również , że młody wiek dawcy <22 roku życia, obniża ryzyko wznowy oraz znamienne obniża ryzyko śmierci związanej z transplantacją (TRM) (p=0,0112). Autorka słusznie stwierdza , że w przypadku doboru dawców z niezgodnością, młody wiek dawcy może częściowo „rekompensować” ryzyko związane z niezgodnością HLA, zaleca również w przypadku wyboru dawcy z niezgodnością poszerzenie badań o analizę szerokich haplotypów MHC (Ehp) biorcy i dawcy.

Znaczenie analizowania Ehp było dotychczas przedmiotem niewielu publikacji. W analizie wielowariantowej Doktorantka wykazała jednoznacznie , że obecność dwóch niezgodnych szerokich haplotypów MHC miała najwyższy współczynnik ryzyka (HR=16,78) implikujący blisko 17-krotnie wyższe ryzyko skrócenia przeżycia chorych w porównaniu z niezgodnym jednym haplotypem pomiędzy biorcą i dawcą. Badanie Ehp mogło by być wykonane w ośrodku poszukującym dawcy bądź też w jednostce zewnętrznej i powinno być silnie zalecane.

Doktorantka zaproponowała rozwiązanie organizacyjne tego problemu, polegające na stworzeniu system informatycznego do obsługi centralnego rejestru dawców CRNPDSiKP, który dla dawców krajowych , na wynikach wyszukiwania „wyświetli” szacowany poziom zgodności haplotypów pomiędzy dawcą i biorcą.

Algorytm uwzględnia także dobór dawca-biorca w zakresie antygeny HLA - DPB1 , wykorzystanie dawcy zgodnego w zakresie locus DPB1 (12/12) lub dawcy z niezgodnością permissywną HLA - DPB1 (w zakresie epitopów TCE) przy zgodnych locus HLA - A, B, C, DRB1, DQB1 może poprawić przeżycie chorych , obniżyć śmiertelność związaną z przeszczepieniem i ryzyko wystąpienia ciężkiej postaci ostrej choroby GvHD. Dyskusja na temat uwzględniania badania HLA-DPB1 w doborze trwa od wielu lat , a głos Doktorantki uzasadnia i wzmacnia zalecenie oceny zgodności i permissywności w przypadku stwierdzenia niezgodności w zakresie antygeny HLA-DPB1.

Autorka potwierdziła także znaczenie utraty par genów iKIR-HLA po transplantacji dla pogorszenia przeżycia wolnego od choroby i ryzyka nawrotu molekularnego u chorych z nowotworami hematologicznymi , co daje przewagę wyboru dawców, którzy dostarczyli dodatkową parę inhibitorów KIR-HLA .

Na podstawie badań własnych i dostępnego piśmiennictwa Doktorantka przedstawiła hierarchię kryteriów biologicznych doboru pary dawca-biorca: status CMV, płeć dawcy – preferowany zawsze dawca płci męskiej, zgodność w układzie grup głównych krwi ABO. Recenzent pragnie w tym miejscu zwrócić uwagę, że aktualnie w ośrodkach transplantacyjnych powszechnie stosowana jest profilaktyka z użyciem letermowiru hamującego replikację wirusa CMV u seropozytywnych biorców, co doprowadziło do eliminacji powikłań związanych z reaktywacją CMV w okresie do +100 doby po transplantacji, tak więc to kryterium może utracić swoje dotychczasowe znaczenie.

Doktorantka zwraca również uwagę na znaczenie wyboru rejestru dawcy z dużą dostępnością dawców i korzystnym położeniem geograficznym oraz na konieczność ciągłego monitorowanie postępu procedury doboru, także z wykorzystaniem narzędzi informatycznych.

Istotne jest też monitorowanie czasu realizacji procedur w Centralnym Rejestrze Niespokrewnionych Potencjalnych Dawców Szpiku i krwi Pępowinowej przez ośrodki dawców szpiku, na etapie aktywacji dawcy w procedurze poszukiwania dawców dla krajowych i zagranicznych biorców, realizację tego zadania powinien umożliwiać nowy system informatyczny tworzony do obsługi krajowego rejestru.

Podsumowując, sformułowane przez Doktorantkę wnioski, oparte na wnikliwej analizie danych wysokiej jakości i wiarygodności mają istotną wartość naukową i praktyczną i stanowią spójne wytyczne dla optymalnego doboru pary dawca-biorca. Znaczącym osiągnięciem autorki jest oryginalny algorytm doboru dawcy niespokrewnionego w oparciu o kryteria wyłonione w badaniach własnych, opublikowane w piśmiennictwie oraz na podstawie własnych doświadczeń zawodowych.

Recenzent pragnie podkreślić, iż aspekty badawcze i praktyczne związane z oceną w zakresie tzw. szerokich haplotypów MHC w przypadków dawców z niezgodnością w HLA były przedmiotem wielu znaczących publikacji z udziałem Doktorantki.

Przeprowadzone przez Doktorantkę badania uzasadniają potrzebę opracowanie urealnionego systemu finansowania procedury poszukiwania i doboru dawców przeszczepu komórek krwiotwórczych oraz wprowadzenie nowego systemu informatycznego do obsługi krajowego rejestru dawców. Przyczyni się to z pewnością do skrócenia czasu doboru dawcy a tym samym umożliwi wykonanie zabiegu transplantacji w optymalnym czasie.

Redakcja pracy

Przedstawiona do recenzji praca ma staranną formę redakcyjną i jest opracowaniem o przejrzystej strukturze. Zwraca uwagę precyzja języka, użycie właściwego nazewnictwa naukowego, logiczny układ poszczególnych części pracy. W rozdziale wprowadzającym, Autorka przedstawia

informacje na temat historii transplantacji komórek krwiotwórczych, omawia szczegółowo obowiązujące wskazania do zabiegu i związane z nim zagadnienia prawne i organizacyjne, przedstawia zasady i warunki dobru dawcy oraz kolejne etapy transplantacji. Doktorantka udowadnia tym doskonałą orientację w podstawach teoretycznych i klinicznych związanych z przeszczepianiem komórek krwiotwórczych i przedstawia uzasadnienie dla podjętych badań własnych.

Omówienie wyników wraz z dyskusją na temat konieczności wprowadzenia modyfikacji w założeniach przyjętych dla doboru dawców znajdujemy w rozdziale zatytułowanym „Analiza wpływu poszczególnych czynników doboru na wynik procedury transplantacyjnej”. Autorka podsumowała w nim aktualny stan wiedzy i rekomendacje oraz na podstawie wyników własnych uzasadniła konieczność zmiany w stratyfikacji czynników wpływających na ostateczną akceptację dawcy. Ta część pracy może stanowić wręcz materiał edukacyjny dla klinicystów zajmujących się transplantologią.

Przedstawione wnioski odpowiadają postawionym w dysertacji celom pracy.

Wyniki analiz zostały przedstawione w postaci czytelnych tabel, rycin i histogramów.

Wybór piśmiennictwa jest adekwatny do problematyki pracy, obejmuje najnowsze pozycje i stanowi spójne odniesienie do omawianych wyników badań własnych.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Recenzowana praca doktorska spełnia warunki art. 13 ustawy z dn. 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki [Dz.U. 2017 poz. 1789] tj. zawiera oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wykazuje wiedzę teoretyczną kandydatki oraz umiejętności samodzielnej prowadzenia pracy naukowej.

Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Warszawie wysoce pozytywną ocenę pracy, a tym samym wystąpić z wnioskiem o dopuszczenie Doktorantki mgr Klaudii Nestorowicz- Kałużnej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora. Pragnę dodać, iż nie znalazłam pola do poczynienia uwag krytycznych.

Jednocześnie w uznaniu wysokiej jakości przeprowadzonych analiz, tytanicznego wkładu pracy Doktorantki, znaczących walorów naukowych i praktycznych uzyskanych wyników pozwalam sobie

zgłosić do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Warszawie wniosek o wyróżnienie recenzowanej rozprawy.

Z wyrazami należącego szacunku i poważania

Prof. UJ dr hab. med. Beata Piątkowska-Jakubas

Kraków , 15 maja 2024



Dr hab. med. Beata Piątkowska-Jakubas
Prof. UJ
SPECJALISTA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH
SPECJALISTA HEMATOLOG
SPECJALISTA TRANSPLANTOLOG KLINICZNY
tel. 501 225 002 2627545