

AUTOREFERAT OPIS OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

Dr n. med. Dorota Kamińska
Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej
Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wrocław 2017

1. **Imię i Nazwisko:** Dorota Kamińska

2. **Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne— z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

- 1998- **dyplom lekarza**, Akademia Medyczna we Wrocławiu, Wydział Lekarski
- 2004 – **dyplom doktora nauk medycznych**, Akademia Medyczna we Wrocławiu, Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego,
Tytuł rozprawy doktorskiej:
"Cytokiny w wycinkach przeszczepionych nerek; powiązanie z natężeniem reakcji odrzuceniowej i nefrotoksycznością inhibitorów kalcyneuryny."
Promotor: Prof. dr hab. Marian Klinger
- 2006 – **dyplom specjalisty w dziedzinie chorób wewnętrznych**
- 2010 – **dyplom specjalisty w dziedzinie transplantologii klinicznej**
- 2013 – **dyplom specjalisty w dziedzinie nefrologii**

3. **Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.**

Staż podyplomowy:

1998-1999 , Klinika Nefrologii, PSK nr 5 we Wrocławiu.

Studia podyplomowe:

1999-2004 Studia Doktoranckie w Katedrze i Klinice Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej AM we Wrocławiu

Zatrudnienie:

2003-2007 asystent w Katedrze i Klinice Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Akademii Medycznej we Wrocławiu

2007- obecnie adiunkt w Katedrze i Klinice Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

4. **Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):**

a) **tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego:**

ZNACZENIE ROKOWNICZE WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW
IMMUNOLOGICZNYCH DLA PRZEŻYCIA PRZESZCZEPÓW NARZĄDOWYCH –
ANALIZA AKTYWACJI IMMUNOLOGICZNEJ DAWCY I BIORCY ORAZ USZKODZENIA
NIEDOKRWIENNO-REPERFUZYJNEGO.

b) **(autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy),**

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl 5 publikacji o łącznym **IF: 14,62** ; **MNiSW/KBN 140**.

Wykaz publikacji będących podstawą do sformułowania wniosku o nadanie tytułu doktora habilitowanego w dziedzinie medycyny:

1. **Dorota Kamińska**, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Paweł Chudoba, Oktawia Mazanowska, Mirosław Banasik, Marcelina Żabińska, Maria Boratyńska, Agnieszka Lepiesza, Krzysztof Korta, Agnieszka Gomułkiewicz, Piotr Dzięgiel, Marian Klinger.: Type of renal replacement therapy (hemodialysis versus peritoneal dialysis) does not affect cytokine gene expression or clinical parameters of renal transplant candidates.
BioMed Res.Int. 2015 Vol.2015; art.ID 797490 [7 s.]
IF: 2.134
2. **Dorota Kamińska**, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Paweł Chudoba, Oktawia Mazanowska, Mirosław Banasik, Marcelina Żabińska, Maria Boratyńska, Agnieszka Lepiesza, Agnieszka Gomułkiewicz, Piotr Dzięgiel, Marian Klinger.: Pretransplant immune- and apoptosis-related gene expression is associated with kidney allograft function.
Mediat.Inflamm. 2016 Vol.2016; art.ID 8970291 [9 s.]
IF: 3.418
3. **Dorota Kamińska**, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Magdalena Krajewska, Adam Chełmoński, Jerzy Jabłecki, Marcelina Żabińska, Marta Myszka, Mirosław Banasik, Maria Boratyńska, Agnieszka Gomułkiewicz, Piotr Dzięgiel, Marian Klinger.: Immune activation- and regulation-related patterns in stable hand transplant recipients
Transpl.Int. 2017 Vol.30 no.2; s.144-152
IF: 2.835
4. **Dorota Kamińska**, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Dominika Drulis-Fajdasz, Agnieszka Hałoń, Wojciech Polak, Paweł Chudoba, Dariusz Janczak, Oktawia Mazanowska, Dariusz Patrzalek, Marian Klinger.: Kidney ischemic injury genes expressed after donor brain death are predictive for the outcome of kidney transplantation. Transplant.Proc. 2011 Vol.43 no.8; s.2891-2894
IF: 1.005
5. **Dorota Kamińska**, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Paweł Chudoba, Agnieszka Hałoń, Oktawia Mazanowska, Agnieszka Gomułkiewicz, Piotr Dzięgiel, Dominika Drulis-Fajdasz, Marta Myszka, Agnieszka Lepiesza, Wojciech Polak, Maria Boratyńska, Marian Klinger.: The influence of warm ischemia elimination on kidney injury during transplantation - clinical and molecular study
Sci.Rep. 2016 Vol.6; art.36118 [10 s.]
IF: 5.228

(*oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie publikacji zawarto w osobnym załączniku)

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Tematyka rozprawy habilitacyjnej dotyczyła oceny wykładników immunologicznych wpływających na powodzenie przeszczepów narządowych (nerki oraz kończyny górnej). Omówione zostaną następujące cele naukowe

A. Ocena aktywacji immunologicznej biorców przeszczepu bezpośrednio przed transplantacją jako wypadkowej mocznicy i terapii nerkozastępczej (publikacja nr 1) oraz badanie wpływu tej aktywacji na późniejsze wyniki przeszczepienia (publikacja nr 2).

B. Ocena aktywacji immunologicznej biorców przeszczepu nerki oraz biorców przeszczepu kończyny górnej w późniejszym okresie po transplantacji (publikacja nr 3).

C. Badanie wpływu aktywacji immunologicznej u zmarłych dawców przeszczepu w następstwie śmierci mózgu oraz uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego na wyniki przeszczepienia nerki wraz z podjęciem interwencji ograniczającej jej skutki (publikacje nr 4 i 5).

Ad A.

Powodzenie przeszczepu nerki zależy od wielu immunologicznych i nieimmunologicznych czynników. Należą do nich niekorzystne zjawiska zachodzące w organizmie biorcy już przed przeszczepieniem – w czasie trwania przewlekłej choroby nerek i leczenia nerkozastępczego. Zgodnie z istniejącym stanem wiedzy przewlekła choroba nerek może być traktowana jako przewlekły stan zapalny, który przyspiesza rozwój miażdżycy i powikłań sercowo-naczyniowych u chorych. Obserwowano, iż przewlekła choroba nerek może wpływać na odpowiedź immunologiczną. Mocznica i związana z nią przewlekła nadczynność przytarczyc powoduje aktywację cytokin, jak również zahamowanie proliferacji limfocytów B i zaburza czynność limfocytów T i produkcję przeciwciał.

Podczas gdy związek mocznicy z przewlekłym stanem zapalnym jest szeroko opisywany to nie jest jasne jak wpływa rodzaj leczenia nerkozastępczego na stan aktywacji immunologicznej biorcy przed zabiegiem transplantacji i czy jest możliwa jego modyfikacja.

Dlatego celem projektu było określenie ekspresji genów dla cytokin, w krwi biorców pobranej tuż przed przeszczepieniem w zależności od rodzaju zastosowanego wcześniej leczenia nerkozastępczego (hemodializy i dializy otrzewnowej – publikacja nr 1).

Badanie przeprowadzono na 87 biorcach przeszczepu nerki (w wieku 16-72 l., śr. 47l) wśród których były 34 kobiety i 53 mężczyźni, u których wykonano przeszczep nerki między 2006 i 2012 r. 66 pacjentów było leczonych nerkozastępczo hemodializą a 21 pacjentów dializą otrzewnową przez okres od 1 do 97 miesięcy (śr. 25± 18 mies).

Bezpośrednio przed zabiegiem przeszczepienia (przed podaniem leków immunosupresyjnych) od każdego z biorców pobrane zostało 10 ml krwi obwodowej w systemie probówek PAX Blood Tubes (PreAnalytix), zapewniających optymalną stabilizację RNA znajdującego się w próbce krwi. Po izolacji RNA z zabezpieczonego materiału i przeprowadzeniu odwrotnej transkrypcji zostało przeprowadzone oznaczenie ekspresji

genów metodą PCR z detekcją w czasie rzeczywistym (TagMan). Analizowano ekspresję genów związanych z następującymi procesami patologicznymi:

- aktywacji limfocytów Th1: IL-2, IFN-gamma,
- aktywacji limfocytów Th2: IL-10, TGF-beta
- aktywacji limfocytów T regulatorowych: FoxP3
- apoptozy: FAS, CASP3, TP53
- reakcji zapalnej: IL-6, IL-8, IL-18, NGAL i TNF-alfa.

Grupy pacjentów leczonych hemodializą (HD) i dializą otrzewnową (CAPD) nie różniły się istotnie pod względem wieku, rozkładu płci oraz BMI. Czas leczenia nerkozastępczego był istotnie krótszy w grupie CAPD niż w grupie HD (15 vs. 33 mies., $p < 0.05$). Standardowe parametry kliniczne obrazujące nasilenie reakcji zapalnej (CRP, st. albumin, cholesterolu, hemoglobiny) nie różniły się istotnie między badanymi grupami. Stężenie kwasu moczowego w surowicy było istotnie wyższe w grupie CAPD (6.8 vs. 5.4 mg/dL, $p < 0.05$).

Zaobserwowano trend w kierunku niższych stężeń CRP i wieku pacjentów w grupie CAPD ale wyniki nie osiągnęły istotności statystycznej. Spośród badanych genów tylko ekspresja FAS, była istotnie, 1.3 razy wyższa w grupie leczonej CAPD w porównaniu do HD ($p < 0.05$). Istotnie niższy był stosunek ekspresji IL10 do FAS u pacjentów z grupy CAPD w porównaniu do grupy HD (0.68x, 95% CI 0.50–0.93, $p = 0.013$).

W odniesieniu do parametrów klinicznych reakcji zapalnej stwierdzono, że ekspresja genu dla FoxP3 była negatywnie skorelowana z WBC w obu grupach razem z ekspresją dla IL-2 i IL-6 ($r_s = -0.41$, $p = 0.01$ and $r_s = -0.34$, $p = 0.009$; odpowiednio) wraz z ekspresją dla IL2 i IL6 ($r_s = -0.33$, $p = 0.01$, and $r_s = -0.34$, $p = 0.009$, odpowiednio).

Stężenie albumin korelowało z ekspresją genu dla IL-10 u wszystkich pacjentów, jak i w grupie HD ($r_s = 0.41$, $p < 0.004$). Ekspresja genu LCN2 (dla NGAL) była dodatnio skorelowana z WBC u wszystkich pacjentów ($r_s = 0.44$, $p < 0.002$). Także biorcy z wyższym BMI prezentowali wyższe ekspresje genu dla NGAL ($r_s = 0.44$, $p < 0.001$ and $r_s = 0.47$).

Powyższą analizę aktywacji immunologicznej biorców przed przeszczepieniem nerki uzupełniono o ocenę jej wpływu na późniejsze losy przeszczepu (publikacja nr 2).

Nasilona synteza prozapalnych cytokin w krwi biorcy w czasie przeszczepienia może stymulować proces zapalny w przeszczepianej nerce co prowadzi do upośledzenia jej funkcji i rozwoju odrzucania. Wykazano uprzednio, że nasilenie reakcji zapalnej u osób z mocznicą wpływało na przeżycie przeszczepu nerki..

W niniejszej analizie 87 biorców przeszczepu nerki otrzymało przeszczep od dawcy w wieku od 16 do 72 lat. Trzech biorców prezentowało uczulenia na antygeny tkankowe przed transplantacją z PRA 20%. Po przeszczepieniu natychmiastowa czynność przeszczepu była obserwowana u 77% biorców. U 17 biorców (19%) wystąpił co najmniej jeden potwierdzony biopsyjnie epizod ostrego odrzucania w ciągu pierwszego roku po przeszczepieniu. Biorcy byli obserwowani do 5 lat po transplantacji. W tym czasie 5 biorców (5,7%) zmarło a 11 (12%) utraciło przeszczep.

Przedtransplantacyjne wykładniki nasilenia reakcji zapalnej (CRP, st. albumin, cholesterolu, hemoglobiny) nie wpływały na częstość epizodów ostrego odrzucania ani na czynność przeszczepu. Podobnie nie odnotowano związku pomiędzy ilością niezgodnych antygenów HLA oraz czasu zimnego niedokrwienia a czynnością i przeżyciem przeszczepu. W badanej grupie tylko wiek biorcy jego BMI oraz wiek dawcy wpływały na wyniki przeszczepienia.

Wiek biorcy był istotnym czynnikiem ryzyka pogorszenia czynności przeszczepu od aż do 24 mies. (przykładowo 14-day GFR: $r = -0,33$, $p = 0,003$, 24-month GFR : $r = -0,35$, $p = 0,012$, odpowiednio). Wiek dawcy nie tylko korelował z gorszą czynnością przeszczepu w czasie całej obserwacji ale był również czynnikiem ryzyka opóźnionej czynności przeszczepu (52.2 ± 10.4 vs. 42.8 ± 13.8 , $p < 0.001$) i wystąpienia ostrego odrzucania (52.1 ± 15.0 vs. 43.3 ± 13.0 ; $p < 0.01$)

Ekspresja TGFB1 negatywnie wpływała na czynność nerki we wczesnym okresie po transplantacji (14-dniowy GFR $r = -0,24$, $p = 0,039$). W przeciwieństwie do ekspresji genu dla IL-2 która korelowała z lepszą czynnością przeszczepu (14-dniowy GFR: $r = 0,24$, $p = 0,040$).

Na czynność nerki w pierwszym roku po transplantacji negatywnie wpływała zwiększona ekspresja genu dla NGAL (LCN2) (3-month GFR $r = -0,27$, $P = 0,024$). Spośród genów dla cytokin związanych z aktywacją limfocytów Th1 IFNG dodatnio korelował z czynnością nerki (6-mies. GFR: $r = 0,27$, $p = 0,029$).

Na odległą czynność przeszczepu pozytywnie wpływała wyższa ekspresja INFG (12-mies GFR: $r = 0,3$, $p = 0,018$, 24-month GFR $r = 0,29$, $p = 0,04$) oraz IL2 (18-mies.GFR $r = 0,28$, $p = 0,049$; 60- mies. GFR $r = 0,41$, $p = 0,026$).

Przedtransplantacyjna ekspresja mRNA dla genów związanych z aktywacją apoptozy (kaspaza-3, Fas, IL-18) była istotnie wyższa u biorców z lepszą czynnością nerki, przez cały okres obserwacji aż do 60 mies ($p < 0.05$). Nie zaobserwowano związku pomiędzy trzecim genem związanym z apoptozą - p53 a czynnością przeszczepu. W analizie ROC stwierdzono, że ekspresja każdego z tych genów przewidywała dobrą czynność przeszczepu po 2 latach (GFR $>$ 50 ml/min) z czułością 70% i specyficznością 80%.

Podsumowując, w przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że rodzaj ani czas leczenia nerkozastępczego (HD vs. CAPD) nie wpływa istotnie na przedtransplantacyjną ekspresję cytokin oraz laboratoryjne wykładniki reakcji zapalnej. Dodatkowo zaobserwowano, że zwiększona ekspresja genów dla cytokin związanych z limfocytami Th1 i apoptozą jest czynnikiem prognozującym lepszą czynność przeszczepionej nerki, ale nie wpływa częstość epizodów ostrego odrzucania. Podobne obserwacje nie były do tej pory opublikowane. Wyniki te wskazują na fakt, iż pewien stopień aktywacji układu zależnego od limfocytów Th1 wspomaga aktywację apoptozy, która poprzez związek z wydzielaniem przeciw-zapalnych cytokin takich jak IL-10 i TGF-beta bierze udział w procesach rozwoju tolerancji na alloantygeny. Dodatkowo ten konstytutywny poziom aktywacji immunologicznej uwrażliwia komórki układu immunologicznego biorcy na stosowane leki immunosupresyjne.

Ad. B.

Drugi cel naukowy obejmował ocenę aktywacji immunologicznej biorców przeszczepu nerki oraz biorców przeszczepu kończyny górnej w późniejszym okresie po transplantacji (publikacja nr 3).

Wyniki przeszczepiania zależą w dużej mierze od nasilenia odpowiedzi immunologicznej biorcy wywołanej reakcją na alloantygeny przeszczepu. Aktywacja limfocytów T w odpowiedzi na kontakt z antygenami HLA dawcy prowadzi do efektorowej fazy odpowiedzi immunologicznej czyli odrzucania przeszczepu. Reakcja ta charakteryzuje się ekspresją specyficznych cytokin, receptorów, cząstek adhezyjnych czy czynników

związanych z apoptozą. Sytuacja odwrotna, czyli tolerancja immunologiczna, stwierdzana wyjątkowo rzadko wśród biorców przeszczepów narządowych

Częstość epizodów ostrego odrzucania jest różna, w zależności od przeszczepianego narządu. Przy obecnych programach immunosupresji nie przekracza 20-25% w przypadku przeszczepów nerek, jednak wciąż dotyczy 80-100% biorców przeszczepów wielotkankowych, w tym biorców kończyny górnej. Wymaga to zwiększania dawki immunosupresji, co nie pozostaje obojętne dla długości przeżycie biorcy przeszczepu kończyny, poprzez indukcję powikłań metabolicznych i infekcyjnych.

Postulowano, że obecność szpiku kostnego w przeszczepach kończyn górnych powinna prowadzić do ułatwienia wywołania stanu tolerancji immunologicznej na antygeny dawcy. Niestety obserwacje kliniczne biorców kończyny górnej nie potwierdziły indukcji tolerancji immunologicznej w tej grupie chorych.

Do tej pory w dostępnej literaturze brak jest dostępnych publikacji na temat różnic w wypadkowej aktywacji układu immunologicznego u stabilnych biorców przeszczepu nerki oraz kończyny górnej. Korzystając z unikatowej sytuacji opieki zarówno nad biorcami przeszczepu nerki, jak i kończyny górnej przeanalizowano subpopulacje limfocytów oraz ekspresję genów związanych z aktywacją różnych populacji limfocytów oraz ekspresję genów krwi obwodowej, aby zbadać, czy wypadkowe pobudzenie immunologiczne u stabilnych biorców przeszczepu kończyny górnej różni się od adekwatnego pobudzenia u biorców nerki.

Badania przeprowadzono u 5 biorców kończyny górnej (w wieku śr. 40 ± 11 lat, 4 M, 1K) średnio 4.8 ± 1.7 lat po przeszczepieniu. U wszystkich biorców wystąpił co najmniej jeden epizod ostrego odrzucania kończyny w przeszłości (od 1 do 7 x). Wszyscy biorcy nie wykazywali klinicznych ani histopatologicznych cech odrzucania w chwili badania. W immunosupresji stosowano takrolimus, mykofenolan mofetilu oraz prednizon (jeden biorca był leczony bez prednizonu). Badania wykonano również u 30 stabilnych biorców przeszczepu nerki (w wieku średnio 37 ± 14 lat, 21M, 9K) średnio 7.9 ± 2.4 lat po transplantacji. Grupę kontrolną stanowiło 18 zdrowych ochotników.

Do badania wybrano geny stanowiące wykładniki reakcji odrzuceniowej jak i tolerancji immunologicznej. Po izolacji RNA z zabezpieczonego materiału i przeprowadzeniu odwrotnej transkrypcji zostało przeprowadzone oznaczenie ekspresji genów metodą PCR z detekcją w czasie rzeczywistym (TagMan). Analizowano ekspresję następujących genów w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej: CD4, CD8, CTLA4, GZMB, FOXP3, IL10, IL4, ILR2A, NOTCH, PDCD1, PRF1, TGF-B i TNF-A. Następujące subpopulacje limfocytów oceniano metodą cytometrii przepływowej: CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD4⁺CD25⁺CD127^{low}, CD8⁺CD28⁻, limfocyty B, komórki NK.

Standardowe fenotypowanie limfocytów ujawniło, że całkowita liczba limfocytów T i NK nie różniła się pomiędzy badanymi grupami. Jednakże w obu grupach biorców (zarówno nerki – KTx, jak i kończyny górnej - HTx) obserwowano zwiększony odsetek limfocytów CD8⁺ w stosunku do grupy kontrolnej zdrowych ochotników (KTx p = 0,005 and HTx p = 0,035). Bezwzględna liczba limfocytów B na mikrolitr nie różniła się pomiędzy biorcami przeszczepu kończyny górnej i grupą kontrolną, jednakże obserwowano 4-krotne zmniejszenie w grupie biorców nerki (p < 0,001). Subpopulacja limfocytów T regulatorowych (CD4⁺CD25⁺CD127^{low}) u biorców przeszczepu kończyny górnej nie różniła się od grupy kontrolnej. W grupie biorców przeszczepu nerki liczebność limfocytów T regulatorowych była istotnie niższa w stosunku do grupy kontrolnej (p < 0,001).

Wraz ze zwiększeniem liczebności limfocytów T CD8⁺ obserwowano zwiększenie odsetka limfocytów CD8⁺CD28⁻ w grupie biorców przeszczepu kończyny górnej w porównaniu z grupą kontrolną (p = 0,003). Podobnie u biorców przeszczepu nerki obserwowano 10-krotne zwiększenie liczebności komórek CD8⁺CD28⁻ w stosunku do grupy kontrolnej (p < 0,001).

Ekspresja wszystkich badanych genów nie różniła się istotnie pomiędzy biorcami przeszczepu nerki a grupą kontrolną.

U biorców przeszczepu kończyny występowała zwiększona ekspresja genów związanych z immunomodulacją (IL10: 8,3x, p=0,015; GITR: 5x, p=0,002; PDCD1: 2,9x, p=0,038) w porównaniu do grupy kontrolnej. Dodatkowo ekspresja genów związanych z odrzucaniem również była wyższa w grupie biorców przeszczepu kończyny górnej w stosunku do grupy kontrolnej (TNF: 5,2x, p=0,006; NOTCH: 19x, p<0,001 i CD8: 7,7x, p=0,003).

W porównaniu do biorców przeszczepu nerki, u biorców przeszczepu kończyny górnej obserwowano wyższą ekspresję genów będących wykładnikami reakcji odrzuceniowej (CD8: 3,8x, p = 0,011; NOTCH: 16.3x, p < 0,001; TNF: 3.7x, p = 0,002). Spośród genów związanych z immunomodulacją tylko ekspresja genu dla GITR była 5-krotnie wyższa w grupie biorców przeszczepu kończyny górnej w porównaniu do biorców nerki (p < 0,001).

Podsumowując w niniejszej pracy przedstawiono po raz pierwszy w literaturze, że wypadkowa aktywacja immunologiczna u stabilnych biorców przeszczepu kończyny górnej różni się od adekwatnej aktywacji u stabilnych biorców przeszczepu nerki wiele lat po transplantacji. Ekspresja genów związanych z reakcją odrzuceniową (TNF, NOTCH, CD8) była istotnie wyższa u biorców przeszczepu kończyny górnej, pomimo braku klinicznych wykładników odrzucenia oraz obecności komórek szpiku kostnego dawcy w przeszczepionej kończynie. Aktywacja immunologiczna u biorców przeszczepu kończyny górnej jest równoważona poprzez wtórną indukcję mechanizmów pro-tolerogennych – wzrost ekspresji IL10, GITR, PDCD1 oraz wyższego odsetka limfocytów T regulatorowych. Przedstawione wyniki wskazują również, że ewentualne redukcja immunosupresji u biorców przeszczepu kończyny górnej powinna się odbywać – jeśli w ogóle - to z wielką ostrożnością, przy ciągłym monitorowaniu stanu pobudzenia układu immunologicznego.

Ad. C.

Trzeci cel naukowy obejmował badanie wpływu aktywacji immunologicznej u zmarłych dawców przeszczepu w następstwie śmierci mózgu oraz uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego na wyniki przeszczepienia nerki. Dodatkowo oceniono skuteczność kliniczną interwencji ograniczającej skutki uszkodzenia związanego z ciepłym niedokrwieniem oraz badano jej wpływ na zmianę aktywacji genów przeszczepianej nerce (publikacje nr 4 i 5).

Kluczowe znaczenie dla wczesnych i odległych wyników transplantacji ma jakość przeszczepianego narządu. Wyniki przeszczepiania nerek pobranych od żyjących dawców są znacząco lepsze niż w przypadku narządów pobranych od dawców w stanie śmierci mózgowej. Śmierć mózgu, pociągająca za sobą nasilone zaburzenia czynności układu krążenia, zaburzenia hormonalne, metaboliczne i immunologiczne, sprzyja uszkodzeniu

przeszczepianego narządu. Aktywacja procesu zapalnego w przeszczepionym narządzie po śmierci prowadzi do wzbudzenia alloodpowiedzi biorcy na przeszczep. Paradoksalnie, im bardziej uszkodzony narząd jest przeszczepiany, tym silniej może stymulować proces odrzucania u biorcy.

Celem realizowanym ze środków projektu badawczego finansowanego przez KBN /MN nr 2 P05B 165 29 było określenie czynników immunologicznych które w momencie przeszczepienia decydują o jego powodzeniu.

Wstępne wyniki zostały przedstawione w publikacji nr 4. Badanie objęło 50 bioptatów nerek pobranych od 25 zmarłych dawców po śmierci mózgowej w momencie pobrania nerki do przeszczepienia (11 K, 14 M, w wieku śr. 47.1 ± 13.1 lat). Grupę kontrolną stanowiło 18 bioptatów nerek uzyskanych od żyjących dawców w czasie pobrania nerki. Nerki przeszczepiono 50 biorców (21 K, 24 M, w wieku śr. 50.5 ± 11.7 lat), po okresie zimnego niedokrwienia śr. 27.5 ± 7.3 godz.

Pobrane wycinki kory nerek dzielono na dwie części. Jedną połowę wycinka przeznaczoną do badania ekspresji genów metodą real-time PCR umieszczano się w próbówce zawierającej preparat RNALater, transportowano w lodzie, a następnie przechowywano w temp. -70°C . Drugą część wycinka przeznaczoną do badania histochemicznego utrwalano w formalinie. Po izolacji RNA izolowano z mrożonych, homogenizowanych bioptatów wykonano odwrotnej transkrypcję, ekspresja genów była analizowana metodą PCR z analizą w czasie rzeczywistym.

W pracy przeanalizowano ekspresję dwóch genów, będących bezpośrednimi wykładnikami uszkodzenia tkanki nerkowej- HAVCR1 i LCN2. Gen HAVCR1 koduje białko KIM-1 (kidney injury molecule-1) będące przezbłonową glikoproteina obecną głównie w kanalikach proksymalnych. Ekspresja KIM-1 jest obserwowana wyłącznie przy współistniejącym uszkodzeniu komórek kanalików proksymalnych i jej nasilenie może być związane ze stopniem tego uszkodzenia. Do zwiększenia ekspresji HAVCR1 dochodzi już w kilka godzin po śmierci mózgowej, zanim widoczne są morfologiczne cechy uszkodzenia kanalików. Gen LCN2 koduje lipokalinę-2 (NGAL), która jest biomarkerem związanym z niedokrwieniem uszkodzenia nerkowych komórek nabłonkowych. NGAL jest syntetyzowany i wydzielany do moczu przez ramię grube wstępujące pętli Henlego oraz cewki zbiorcze. Jego zwiększona zawartość w moczu jest czułym wykładnikiem uszkodzenia związanego z niedokrwieniem a także śmiercią mózgu dawcy.

W niniejszej pracy stwierdzono znaczne nasilenie ekspresji genów HAVCR1 (4,7x, $p < 0,0001$) oraz LCN2 (8x, $p < 0,0006$) w bioptatach pobranych od zmarłych dawców w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdzono dodatnią korelację ze stężeniem kreatyniny w surowicy biorców 6 miesięcy po transplantacji (HAVCR1: $r = 0,65$, $p < 0,0001$; LCN2: $r = 0,44$, $p = 0,0006$).

Obserwowano wyższą ekspresję genu LCN2 w bioptatach u biorców, u których stwierdzono opóźnioną czynność przeszczepu i/lub epizod ostrego odrzucania (1,7x, $p = 0,027$). W analizie ROC stwierdzono, że nasilenie ekspresji LCN2 może przewidywać wystąpienie opóźnionej czynności przeszczepu i/lub ostrego odrzucania ze niską czułością (57%) i specyficznością (59%).

Dodatkowo stwierdzono, że nasilenie ekspresji genu LCN2 może przewidywać gorszą czynność przeszczepionej nerki (st. kreatyniny $> 1,5$ mg/dL po 6 miesiącach) z 65% czułością i 68% specyficznością. Nie stwierdzono takich zależności dla ekspresji genu HAVCR1.

Podsumowując w pracy wykazano, że ekspresja genów HAVCR1 i LCN2 stanowi znak rozpoznawczy uszkodzenia związanego ze śmiercią mózgu dawcy nerki, natomiast tylko ekspresja genu LCN2 jest predyktorem wystąpienia ostrego odrzucania i/lub opóźnionej czynności przeszczepu jak i późniejszej czynności nerki.

W dalszym etapie realizacji celu naukowego analizowano niekorzystne zjawiska zachodzące w nerce podczas jej przechowywania w prostej hipotermii jak i wszczęcia do organizmu biorcy, prowadzące zarówno do fizycznego uszkodzenia narządu, jak i do wzbudzenia odpowiedzi immunologicznej. Uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne jest spowodowane przywróceniem czasowo przerwanej krążenia krwi. W transplantacji nerek obecnie pod uwagę bierze się czas przechowywania narządu w niskiej temperaturze (tzw. czas zimnego niedokrwienia) oraz czas od momentu ogrzania nerki wewnątrz jamy brzusznej biorcy do puszczenia zacisków naczyniowych (tzw. drugi czas ciepłego niedokrwienia, zwykle od 20 do 50 min.). Uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne, które powoduje wystąpienie procesu zapalnego, co może prowadzić do zaburzeń czynności narządu, jest istotniejszym czynnikiem w rokowaniu niż dobór w zakresie antygenów zgodności tkankowej.

O ile dobrze udokumentowany jest negatywny wpływ długości czasu zimnego i ciepłego niedokrwienia na późniejsze losy przeszczepionej nerki, to w piśmiennictwie brak było prac, które jednoznacznie wskazywałyby na skuteczność metod związanych z eliminacją czasu ciepłego niedokrwienia poprzez powierzchniowe chłodzenie nerki w czasie zabiegu przeszczepienia.

W naszym ośrodku stosuje się eliminację ciepłego niedokrwienia poprzez oziębienie przeszczepianego narządu w czasie zabiegu przy zastosowaniu specjalnie skonstruowanego polietylenowego worka (Raguse GmbH), w którym umieszczona jest przeszczepiana nerka w trakcie wykonywania zespołań naczyniowych. Stosowano worek z folii polietylenowej o grubości 0,04 mm. Worek zbudowany jest z trzech kompartmentów – w środkowym znajduje się przeszczepiana nerka, a w bocznych pojemnikach jałowy 0.9% roztwór NaCl z topniejącym lodem, aby utrzymywać stałą temperaturę plus 4 °C. Po umieszczeniu nerki w środkowym kompartmentcie wycina się w nim niewielki otwór aby wyprowadzić na zewnątrz worka naczynia nerkowe. Następnie w sposób typowy wykonuje się zespolenia naczyniowe pomiędzy naczyniami nerkowymi dawcy a naczyniami biodrowymi biorcy. Po zakończeniu zespołań naczyniowych w przeszczepianej nerce i odtworzeniu przepływu naczyniowego worki z roztworem topniejącego lodu są usuwane i przystępuje się do dalszych etapów zabiegu.

Tematem pracy (publikacja nr 5) była ocena wpływu powierzchniowego chłodzenia nerki w czasie przeszczepienia na kliniczne i molekularne wskaźniki jej uszkodzenia. 23 biorców przeszczepu nerki losowo przydzielono do grupy operowanej z użyciem worka chłodzącego (ice bag technique, IBT), a pozostałych 23 biorców kontralateralnej nerki operowano metodą klasyczną. Stwierdzono niższą częstość występowania opóźnionej czynności przeszczepionej nerki, jak i ostrego odrzucania w grupie IBT. Wstępne wyniki opublikowano w formie listu w *American Journal of Transplantation* (Kamińska D., i wsp.: *Kidney Injury Due to Warm Ischemia During Transplantation Can Be Reduced*. *Am.J.Transplant.* 2016 Vol.16 no.5; s.1639).

Pełne opracowanie obejmowało również analizę ekspresji genów w trzech kolejno pobieranych biopsjach w czasie przeszczepienia: bezpośrednio po pobraniu narządu, po okresie zimnego niedokrwienia i w 30 min. po reperfuzji.

Oznaczono metodą PCR z detekcją w czasie rzeczywistym ekspresję genów związanych z następującymi procesami patologicznymi:

- uszkodzeniem tkanki: CSF1, IL8, NFKB1, IL8, TGFB1, MMP9, HSPA1A, HMOX1, NOS2; LCN2, HACR1, HMGB1, TLR2, IL17A, GUSB
- reakcją zapalną: IL6, IL10, TNF;
- aktywacją limfocytów T: IL2, IFNG, FAS, FASLG;
- migracją komórek: ICAM1, CCL2, CD68
- apoptozą: BCL2, TP53, CASP3, IL18.

Do tej pory nie było w dostępnym piśmiennictwie publikacji dotyczących analizy skutków ciepłego niedokrwienia przy eliminacji wpływu czynników związanych z dawcą narządu. Na losy przeszczepionej nerki bardzo istotnie wpływają cechy zmarłego dawcy (ze szczególnym uwzględnieniem masy ciała oraz wieku dawcy). Aby wyeliminować wpływ cech dawcy na wynik eksperymentu porównywano dwie nerki pobrane od tego samego dawcy. Jedna (wybierana losowo) była przeszczepiona w sposób standardowy, a druga z wyżej opisaną eliminacją ciepłego niedokrwienia.

Nerki pobrano od 23 dawców (10 K, 13 M, w wieku śr. 48 ± 12 lat), przeszczepiono 46 biorcom (17 K, 29 M, w wieku śr. 50 ± 12 lat) po okresie zimnego niedokrwienia około 28 ± 7 godzin. Obie badane grupy różniły się istotnie wyłącznie pod względem czasu ciepłego niedokrwienia (23.6 ± 8.1 min. vs 0 min.).

Wykazano, że zastosowania chłodzenia nerki spowodowało zmniejszenie częstości występowania opóźnionej czynności przeszczepu (8 biorców, vs 5 biorców) jak i częstości występowania epizodów ostrego odrzucania przeszczepu w ciągu pierwszego roku po transplantacji (10 biorców vs 4 biorców). Biorąc pod uwagę oba niekorzystne zdarzenia występujące po przeszczepieniu (DGF i ostre odrzucanie) wykazano, że eliminacja ciepłego niedokrwienia istotnie zmniejsza częstość ich występowania ($p = 0,015$).

Zwiększona ekspresja genów dla metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej 9 (MMP9) i lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilii - NGAL (LCN2) w biopsji pobranej po reperfuzji korelowała z wystąpieniem opóźnionej czynności przeszczepu ($p = 0,012$ i $p = 0,032$, odpowiednio). Zwiększenie ekspresji genu IL10 i ICAM w czasie zimnego niedokrwienia (B1 → B2) korelowało z wystąpieniem opóźnionej czynności przeszczepu ($p = 0,032$ i $p = 0,049$, odpowiednio). U biorców, u których wystąpiła opóźniona czynność przeszczepu i/lub epizod ostrego odrzucania ekspresja genu MMP9 po reperfuzji była dwukrotnie wyższa niż u pozostałych biorców ($p = 0,009$).

Wczesna czynność przeszczepu nerki (eGFR) korelowała ujemnie z ekspresją genu LCN2 po reperfuzji (14 dni: $rs = -0,24$, $p = 0,037$; 1 mies: $rs = -0,34$, $p = 0,004$; 3 mies: $rs = -0,29$, $p = 0,033$). Niższa ekspresja genu MMP9 po reperfuzji korelowała z lepszą czynnością przeszczepu (14 dni: $rs = -0,26$, $p = 0,024$; 1 mies: $rs = -0,25$, $p = 0,040$).

Wykazano, że ekspresja genów związanych z apoptozą (BCL2, FAS, TP53, IL18) oraz TGFB wpływała na odległą czynność przeszczepionej nerki. Spadek ekspresji genu BCL2 w czasie niedokrwienia był związany z lepszą czynnością przeszczepu (3 mies: $rs = -0,278$, $p = 0,037$; 18 mies: $rs = -0,313$; $p = 0,035$). Spadek ekspresji genów związanych z apoptozą w czasie niedokrwienia (FAS, TP53, IL18) korelował z lepszą odległą czynnością nerki (FAS B3 → B1 i GFR 18 mies.: $rs = -0,395$, $p = 0,007$; TP53, B3 → B2, 12 mies.:

$rs = -0,324$, $p = 0,022$; 18 mies: $rs = -0,442$, $p = 0,003$; 24 mies: $rs = -0,351$, $p = 0,022$; IL18, B3 → B1, 18 mies: $rs = -0,351$, $p = 0,017$; 24 mies: $rs = -0,326$, $p = 0,028$).

Podobnie spadek ekspresji genu TGFB w czasie ciepłego niedokrwienia korelował dodatnio z lepszą czynnością nerki od 3 do 24 mies (B3 → B2, 3 months: $rs = -0,323$, $p = 0,017$; 24 months: $rs = -0,354$, $p = 0,019$).

W analizie par nerek pochodzących od tego samego dawcy wykazano, że eliminacja ciepłego niedokrwienia powodowała istotny spadek w czasie niedokrwienia ekspresji genów związanych z uszkodzeniem tkanki nerkowej - MMP9 (3x, $p=0,003$) oraz LCN2 (3x, $p=0,018$) w porównaniu do nerek przeszczepianych metoda standardową. Podobnie biorcy ci prezentowali lepszą czynność przeszczepionej nerki po 2 tygodniach od przeszczepienia.

Podsumowując, jest to pierwsze doniesienie w literaturze wskazujące, że aktywacja genów związanych z uszkodzeniem tkanki nerkowej, do której dochodzi po śmierci mózgu dawcy oraz w czasie przechowywania nerki może być przynajmniej częściowo zmniejszona poprzez eliminację ciepłego niedokrwienia w czasie przeszczepiania nerki. Dodatkowo powierzchowne chłodzenie nerki wpływa na redukcję częstości występowania niekorzystnych zjawisk zachodzących po przeszczepieniu – opóźnionej czynności przeszczepu i/lub wystąpienia epizodów ostrego odrzucania oraz poprawę wczesnej czynności nerki.

Podsumowanie i wnioski. Wykorzystanie osiągniętych wyników

Prace stanowiące rozprawę habilitacyjną, poświęcone problematyce biorców przeszczepu nerki oraz kończyny górnej wnoszą istotny wkład w poznanie czynników wpływających na powodzenie przeszczepu w tej populacji pacjentów.

W transplantologii poszukiwane są biomarkery służące nie tylko ocenie stanu uszkodzenia przeszczepianego narządu ale także wypadkowej aktywacji układu immunologicznego dawcy oraz biorcy w celu właściwego dopasowania leczenia immunosupresyjnego. Indywidualizacja leczenia immunosupresyjnego z jednej strony powinna poprawić wczesne wyniki przeszczepiania poprzez zmniejszenie częstości epizodów ostrego odrzucania oraz opóźnionej czynności przeszczepu, lecz także – poprzez uniknięcie stosowania przez długi czas zbyt dużego ładunku immunosupresji - poprawić wyniki odległe poprzez wydłużenie czasu przeżycia biorców przez zmniejszoną częstość powikłań infekcyjnych, metabolicznych czy wreszcie występowania nowotworów.

Istotnym osiągnięciem, które wzbogaca cykl powyższych prac oryginalne, nie publikowane wcześniej w światowym piśmiennictwie doniesienia:

1. obserwacja, że aktywacja układu immunologicznego biorcy przeszczepu nerki przed transplantacją (spowodowana przewlekłą mocznicą i leczeniem nerkozastępczym) poprzez zwiększoną ekspresję genów dla cytokin związanych z limfocytami Th1 i apoptozą jest czynnikiem prognozującym lepszą czynność przeszczepionej nerki,
2. obserwacja, że wypadkowa aktywacja immunologiczna u stabilnych biorców przeszczepu kończyny górnej różni się od adekwatnej aktywacji u stabilnych biorców przeszczepu nerki wiele lat po transplantacji zarówno w odniesieniu do procesów związanych z odrzucaniem jak i immunomodulacją,

3. obserwacja, że aktywacja genów związanych z uszkodzeniem tkanki nerkowej, do której dochodzi po śmierci mózgu dawcy oraz w czasie przechowywania nerki może być przynajmniej częściowo zmniejszona poprzez eliminację ciepłego niedokrwienia w czasie przeszczepiania nerki, co wpływa na wynik kliniczny przeszczepienia.

Zbadane zostały wszystkie etapy uszkodzenia narządów w trakcie procedury transplantacyjnej: od aktywacji immunologicznej potencjalnego biorcy w momencie przeszczepienia, poprzez aktywację genów w trakcie pobrania narządu od zmarłego dawcy, aż do uszkodzeń, do których dochodzi w trakcie przechowywania i przeszczepiania narządu oraz stanu aktywacji układu immunologicznego w późnym okresie po przeszczepieniu.

Stwierdzone powiązania pomiędzy ekspresją genów, a danymi dotyczącymi operacji przeszczepienia, jak i późniejszego przebiegu klinicznego dają wgląd w molekularnego podłoża zjawisk zachodzących w przeszczepianym narządzie, co da podstawy do opracowania do nowych sposobów postępowania z dawcami narządów oraz procedur przeszczepowych, mających na celu polepszenie jakości pobieranych narządów. W sytuacji ciągłego niedoboru narządów do transplantacji poprawa ich wykorzystania jest jednym z najbardziej aktualnych i ważnych problemów w transplantologii.

Jako klinicysta, na co dzień zajmujący się opieką nad chorymi po transplantacjach narządowych mam nadzieję, że przyczyniając się do zmiany procedur transplantacyjnych (jak wprowadzenie do powszechnego użytku zastosowanej w moich badaniach eliminacji ciepłego niedokrwienia) może przynieść wymierną poprawę tak immunologicznych jak i klinicznych wykładników powodzenia transplantacji.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych):

(szczegółowe informacje przedstawiono w załączniku „Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki)

Mój dorobek naukowy obejmuje (stan na 10.04.2017r.):

Łączna punktacja wszystkich moich publikacji wynosi : IF =47,811, MNiSZW/KBN = 701

Po wyłączeniu 5 prac stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego punktacja wynosi odpowiednio: IF = 33,191 oraz MNSiZW/KBN= 561

Liczba cytowań na podstawie bazy Web of Science Core Collection wynosi 176.

Index Hirsha h=8

Po wyłączeniu 5 prac stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego na mój dorobek naukowy składa się:

- 35 prac oryginalnych
- 7 prac poglądowych
- 11 innych prac (3 opisy przypadków, 1 list do redakcji, 6 rozdziałów w monografiach, 1 publikacja pełnotekstowa w suplemencie czasopisma)

Powyższe prace ukazały się w renomowanych czasopismach krajowych i zagranicznych, z których większość posiada współczynnik wpływu.

(dokładna analiza bibliometryczna publikacji potwierdzona przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu przedstawiona w osobnym załączniku)

Aktywny udział krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych

Jestem współautorem 113 doniesień konferencyjnych (60 zjazdów krajowych, 53 zjazdów zagranicznych). W 38 zgłaszanych pracach jestem pierwszym autorem.

(szczegółowy wykaz streszczeń zjazdowych potwierdzony przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu przedstawiono w osobnym załączniku)

Recenzje w czasopismach naukowych

Wykonałam recenzje manuskryptów dla redakcji czasopism medycznych o zasięgu międzynarodowym:

- Plos One (IF: 3,057)
- Journal of Immunology Research (IF: 2,812)
- Renal Failure (IF: 0,875)

Główne zainteresowania kliniczne i naukowe

Moje zainteresowania naukowe i prowadzone badania koncentrują się na kilku tematach badawczych:

1. wpływ czynników immunologicznych i klinicznych na wyniki przeszczepiania nerek
2. powikłania infekcyjne i nieinfekcyjne po przeszczepie nerki
3. współistnienie zmian w nerkach w przebiegu chorób układu krwiotwórczego
4. właściwości farmakologiczne leków immunosupresyjnych
5. przebieg, powikłania i wyniki przeszczepiania kończyny górnej
6. przebieg, powikłania i wyniki przeszczepiania nerki oraz nerki z trzustką u pacjentów z cukrzycą t. I.
7. przebieg kliniczny i podłoże molekularne kłębuszkowych zapaleń nerek

Ad. 1. Prace i zagadnienia dotyczące pkt. 1 w większości przedstawiono w części opisującej rozprawę habilitacyjną. Dotyczyły one ekspresji genów czynników immunologicznych zarówno w tkance nerkowej, jak i krwi biorców przeszczepu nerki. Poszczególne prace dotyczyły między innymi znaczenia aktywacji genów związanych z apoptozą po przeszczepieniu nerki oraz molekularnych podstaw uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego. W innych pracach z zakresu transplantologii zajmowałam się znaczeniem rokowniczym poszczególnych elementów klasyfikacji histopatologicznej Banff w rozpoznaniu ostrego odrzucania nerki oraz znaczeniem nacieków eozynofilowych w biopsjach przeszczepionych nerek. W pracach z zakresu immunologii transplantacyjnej zajmowałam się monitorowaniem specyficznej odpowiedzi na alloantygeny przeszczepu z użyciem metody ELISPOT czy oznaczeniem przeciwciał anty -HLA i anty -nonHLA. Brałam udział w opracowaniu systemu analizy obrazów uzyskiwanych w immunoenzymatycznej wizualizacji aktywności wydzielniczej limfocytów metodą ELISPOT.

Ad 2. Badanie przebiegu klinicznego i powikłań występujących po przeszczepieniu nerki zaowocowało analizą wyników przeszczepiania u chorych na układowe zapalenia naczyń cANCA oraz występowania gruźlicy po przeszczepie nerki, a także rozwarstwienia aorty po przeszczepie, czy powikłań sercowo-naczyniowych.

Ad. 3. Przedmiotem mojego zainteresowania klinicznego było współistnienie zmian w nerkach w przebiegu chorób układu krwiotwórczego oraz u chorych po przeszczepie szpiku oraz rodzinne występowanie szpiczaka mnogiego.

Ad. 4. Kolejne prace koncentrowały się nad klinicznymi i farmakodynamicznymi aspektami leków immunosupresyjnych. We współpracy z Politechniką Wrocławską badałam zmiany płynności błony erytrocytów u biorców przeszczepu nerki metodą spektroskopii EPR. Badałam jak rodzaj leczenia immunosupresyjnego wpływa na wewnątrznerkową ekspresję cytokin oraz gospodarkę wapniowo-fosforanową. Prowadziłam też badania nad wchłanianiem różnych preparatów kwasu mykofenolowego.

Ad. 5. Doświadczenie kliniczne w opiece nad biorcami przeszczepu kończyny górnej zaowocowało pracami dotyczącymi powikłań infekcyjnych, metabolicznych oraz zmian immunologicznych i postaci klinicznych odrzucania w tej grupie pacjentów.

Ad. 6. Współpraca ze Śląskim Uniwersytetem Medycznym pozwoliła na badania przebiegu klinicznego, powikłań metabolicznych i sercowo-naczyniowych oraz wyników przeszczepiania nerki oraz nerki z trzustką.

Ad. 7. Prace dotyczące przebiegu klinicznego i podłoża molekularnego kłębuszkowych zapaleń nerek były skoncentrowane na przebiegu klinicznym i markerach immunologicznych w układowych zapaleniach naczyń, FSGS oraz – we jako część współpracy międzynarodowej w programie VALIGA i post-VALIGA – nefropatii IgA.

Jestem współautorem rozdziału o układowych zapaleniach naczyń w podręczniku „Wielka interna – nefrologia” pod red. Michała Myśliwca oraz rozdziału o leczeniu immunosupresyjnym i lekach biologicznych w nefrologii w podręczniku „Nefrologia i leczenie nerkozastępcze: praktyczny przewodnik” ; pod red. Bolesława Rutkowskiego.

Brałam także czynny udział, jako współwykonawca w realizacji licznych badań prowadzonych w Klinice Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej, także we współpracy z innymi klinikami i Zakładami UM we Wrocławiu (m.in. Kl. Chirurgii Ogólnej, Naczyniowej i Transplantacyjnej, Kl. Neurologii, KL. Hematologii, Zakładem Radiologii, Katedrą Histologii, Zakład Anatomii Patologicznej) oraz z uczelniami wrocławskimi (Politechniką Wrocławską) i krajowymi (Warszawskim Uniwersytetem Medycznym, Śląskim Uniwersytetem Medycznym). Opublikowane prace stanowią dopełnienie mojego dorobku naukowego. Część badań międzywydziałowych i międzyuczelnianych jest nadal kontynuowana.

Współpraca międzynarodowa, realizowana w ramach badania VALIGA i post – VALIGA, finansowanego przez ERA-EDTA zaowocowała pracami o molekularnym podłożu nefropatii IgA.

Badania naukowe, w ramach których powstała większość moich opracowań były (lub są) prowadzone w oparciu o następujące źródła finansowania:

A. Projekty badawcze realizowane z funduszy KBN/MN/NCN:

- Grant KBN/MN nr 2 P05B 165 29 "Zmiany strukturalne i immunologiczne w nerce przeznaczonej do przeszczepienia - wpływ okresu zimnego i ciepłego niedokrwienia oraz reperfuzji". (kierownik projektu)
- Grant KBN nr 4 PO5B 06917 "Charakterystyka cytokin i czynników wzrostowych w wycinkach nerek pobranych od biorców przeszczepu nerki; określenie powiązań z ostrym i przewlekłym odrzucaniem oraz nefrotoksycznością cyklosporyny" (wykonawca projektu)

- Grant MniSW nr 3p05c 073 24 p04 „Ocena wpływu zgodności antygenów HLA i czasu niedokrwienia na bezpośredni i odległy wynik allogennego przeszczepienia nerki pobranej ze zwłok” (wykonawca projektu)
- Grant KBN/MN nr 2 P05C 015 29 „Wpływ śmierci mózgowej dawcy, okresu przechowywania i reperfuzji na ekspresję genów oraz aktywację tkankową w przeszczepionej nerce” (wykonawca projektu)
- Grant KBN/MN nr 2 P05B 158 29 „Ocena stanu immunologicznego biorców przeszczepu nerki poprzez nieinwazyjne monitorowanie alloreaktywności komórkowej” (wykonawca projektu)
- Grant KBN/MN nr 3 T11E 029 29 „Opracowanie systemu analizy obrazów uzyskiwanych w immunoenzymatycznej wizualizacji aktywności wydzielniczej limfocytów metodą ELISPOT” (wykonawca projektu)
- Grant NCN nr 2013/09/B/NZ5/00258 „Analiza dysfunkcji śródbłonna, zaburzeń krzepnięcia i markerów progresji miażdżycy u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek w przebiegu cukrzycy typu 1 poddanych przeszczepowi nerki lub nerki i trzustki” (wykonawca projektu)

B. Projekty badawcze realizowane w ramach badań własnych Uczelni:

- „Alloprzeszczepy nerek - czynniki wpływające na odległą funkcję przeszczepionego narządu” (2002-2004, wykonawca projektu)
- „Wykorzystanie techniki ELISPOT do badania zależności między alloreaktywnością biorców przeszczepu nerki a występowaniem ostrych i przewlekłych reakcji odrzuceniowych (projekt badawczy w ramach badań własnych uczelni” (2003-2005, wykonawca projektu)
- „Apoptoza w wycinkach tkanki nerkowej pobranej od dawców przeszczepu nerki, po okresie zimnego niedokrwienia i po reperfuzji” (2004-2006, wykonawca projektu)
- „Wpływ inhibitorów kalcyneuryny na wybrane własności błon erytrocytów” (2005-2007, kierownik projektu)
- „Apoptoza granulocytów krwi obwodowej w układowym zapaleniu naczyń - wpływ surowicy zawierających przeciwciała antygranulocytarne ANCA” (2006-2009, wykonawca projektu)
- „Alloprzeszczepy nerek - ocena wpływu właściwości genetycznych odpowiedzi immunologicznej na bezpośrednią i odległą funkcję przeszczepionej nerki (projekt badawczy w ramach badań własnych uczelni” (2008-2010, wykonawca projektu)

Nagrody i wyróżnienia:

Za działalność naukową otrzymałam następujące nagrody i wyróżnienia:

- Nagroda Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu indywidualna stopnia II – 2005r., za pracę doktorską.
- Nagroda Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu zespołowa stopnia I – 2006r., za cykl prac na temat leczenia nerkozastępczego
- Nagroda Europejskiej Organizacji koordynatorów Transplantacyjnych (ETCO) – 2006r., za najlepszą prezentację na zjeździe Wrocław 2006.

- Nagroda Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu zespołowa – 2007r., za cykl prac na temat leczenia schyłkowej niewydolności nerek za pomocą przeszczepienia nerki
- Nagroda Rektora Śląskiego Uniwersytetu Medycznego zespołowa – 2012r., za cykl prac poświęconych leczeniu przewlekłej niewydolności nerek w przebiegu cukrzycy typu I z wykonaniem jednoczasowego przeszczepienia nerki i trzustki.
- Nagroda Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu zespołowa – 2012r., za rozdział „Focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) recurrence in kidney allograft recipients” w podręczniku pt.: After the kidney transplant - the patients and their allograft
- Nagroda Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu zespołowa – 2012r., za cykl prac dotyczących transplantologii
- Nagroda Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego „Pro Transplantationibus Fovendis” za cykl prac o łącznym IF 24,707 (Kraków 2009)

W 2011r. zdobyłam pierwsze miejsce w konkursie projektów ogłoszonym przez Polskie Towarzystwo Nefrologiczne; tytuł projektu „Wpływ rodzaju leczenia nerkozastępczego (dializa otrzewnowa, hemodializa) na aktywację immunologiczną biorcy przeszczepu nerki.”

W 2015r. zdobyłam pierwsze miejsce w konkursie projektów ogłoszonym przez Polskie Towarzystwo Transplantacyjne; tytuł projektu „Tolerancja czy odrzucenie - wynik przeszczepienia nerki a współdziałanie mechanizmów wrodzonej i nabytej odporności”.

Towarzystwa Naukowe

Jestem członkiem następujących towarzystw naukowych:

- Polskie Towarzystwo Nefrologiczne – PTN
- Polskie Towarzystwo Transplantacyjne – PTT (od 2009r. pełnię funkcję członka Zarządu Głównego).
- European Renal Association- European Dialysis and Transplant Association/ (ERA-EDTA)
- European Society of Organ Transplantation (ESOT)

Działalność dydaktyczna

Szkolenie przeddyplomowe

- Od roku 2008/2009 pełnię funkcję adiunkta dydaktycznego w Klinice Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej.
- Prowadzę zajęcia dydaktyczne (ćwiczenia, wykłady) z przedmiotu nefrologia, propedeutyka chorób wewnętrznych, transplantologia kliniczna ze studentami III i IV roku Wydziału Lekarskiego, Lekarsko-Stomatologicznego i Nauk o Zdrowiu oraz English Division
- Jestem opiekunem praktyk wakacyjnych studentów UM
- Byłam opiekunem Studenckiego Koła Nefrologii (2009-2011), jestem członkiem Komitetu Naukowego corocznej Międzynarodowej Studenckiej Konferencji Naukowej

Młodych Naukowców oraz Ogólnopolskiej Konferencji Studenckich Kół Naukowych Uczelni Medycznych.

Szkolenie podyplomowe

- Prowadzę zajęcia dydaktyczne (seminaria, wykłady) z przedmiotu „Metodologia badań naukowych” dla słuchaczy studium doktoranckiego. Tego rodzaju program nie był wcześniej realizowany w mojej uczelni, uczestniczyłam w opracowaniu programu przedmiotu.
- Uczestniczę w szkoleniu podyplomowym lekarzy prowadząc wykłady w ramach kursów specjalizacyjnych z listy CMKP do nefrologii – „Diagnostyka i leczenie pierwotnych i wtórnych nefropatii”, „Wprowadzenie do specjalizacji z nefrologii”, „Transplantologia Klinicznej”, „Dializoterapia”.
- Jestem jednym z wykładawców na kursie (cotygodniowe spotkania) - Podyplomowa Szkoła Nefropatii (całoroczny kurs doskonalący z listy CMKP zalecany przez Konsultanta Krajowego dla lekarzy specjalizujących się w dziedzinie nefrologii), gdzie regularnie przedstawiam nowe osiągnięcia w badaniach nad patogenezą i leczeniem chorób nerek i przeszczepów nerek w świetle aktualnych publikacji.
- Uczestniczyłam w układaniu pytań testowych do egzaminu specjalizacyjnego w dziedzinie nefrologii, chorób wewnętrznych i transplantologii na zlecenie Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi
- Jestem kierownikiem specjalizacji 1 lekarza w zakresie nefrologii
- Brałam udział w przeprowadzaniu egzaminu ustnego wchodzącego w skład Państwowego Egzaminu Specjalizacyjnego (PES) w dziedzinie nefrologii jako Członek Państwowej Komisji Egzaminacyjnej w dziedzinie Nefrologia.

Działalność organizacyjna i popularyzująca naukę

Działalność na rzecz Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

- Od 2012r. do chwili obecnej (druga kadencja) jestem członkiem Rady Wydziału WLKP UM we Wrocławiu oraz członkiem Komisji Wydziałowej ds. Restrukturyzacji WLKP UM we Wrocławiu a także Senackiej Komisji Budżetowej UM.
- W 2016r. zostałam wybrana do Uczelnianego Kolegium Elektorów Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu na kadencję 2016-2020

Działalność na rzecz Ministra Zdrowia:

W roku 2015 zostałam powołana na członka ministerialnego zespołu ds. opracowania nowych zasad kwalifikacji do leczenia przeszczepieniem nerki przy Ministrze Zdrowia.

Organizacja konferencji, kongresów i zjazdów

- Współuczestniczyłam w organizacji Polsko-Niemiecko-Czeskich Sympozjów Naukowych „Modern Aspects of Nephrology and Hypertension” cyklicznie organizowanych od kilkunastu lat dla umocnienia współpracy pomiędzy czołowymi nefrologami i transplantologami Polski, Czech i Niemiec;
XIV Sympozjum, Wrocław, 2008
XVII Sympozjum, Wrocław, 2011
XX Sympozjum, Wrocław, 2014

- Współuczestniczyłam w organizacji międzynarodowej konferencji „Therapeutic Drug Monitoring” jako członek komitetu organizacyjnego, Warszawa 26-27.09.2008
- Brałam czynny udział w organizacji XI Zjazdu Polskiego Towarzystwa Nefrologicznego jako członek komitetu organizacyjnego, Wrocław, 2013
- Byłam wykładowcą Dolnośląskiego Festiwalu Nauki, gdzie prowadziłam wykłady z zakresu nefrologii i transplantologii
- Uczestniczę w wykładach popularno-naukowych dla uczniów szkół podstawowych i gimnazjów w ramach „Akademii Młodych Odkrywców” prowadzonej przez Politechnikę Wrocławską
- Prowadziłam liczne wykłady i szkolenia dotyczące pobierania nerek od żywych dawców w oddziałach szpitalnych, stacjach hemodializ, lekarskich towarzystwach naukowych, szkołach i uczelniach wyższych. Jestem ekspertem medycznym kampanii „Drugie życie” promującej transplantologię.

Wrocław 10.04.2017r.

Podpis

Dorota Kamińska
