

# **AUTOREFERAT**

## **OPIS DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH**

**dr Mirosław Banasik**

Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej

Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław

1. Imię i Nazwisko.

**Mirosław Banasik**

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

- **dyplom lekarza**- Wydział Lekarski, Akademia Medyczna we Wrocławiu, 2001

- **doktor nauk medycznych**, Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego, Akademia Medyczna we Wrocławiu, 2008

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Rola humoralnej odpowiedzi immunologicznej w ostrym odrzucaniu alloprzeszczepu nerki”

Promotor: Prof. dr hab. Maria Boratyńska

- **tytuł specjalisty w dziedzinie chorób wewnętrznych**- 2008

Kierownik specjalizacji: Prof. dr hab. Maria Boratyńska

- **tytuł specjalisty w dziedzinie nefrologii**- 2011

Kierownik specjalizacji: Prof. dr hab. Marian Klinger

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

2002-2006 Studia doktoranckie, Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej AM we Wrocławiu

2005-2009 Asystent, Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej AM we Wrocławiu

2009-obecnie Adiunkt , Katedra i Klinika 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. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) Tytuł osiągnięcia naukowego :

**Monitorowanie odpowiedzi humoralnej zależnej od przeciwciał anty-HLA oraz nie-HLA u biorców przeszczepów narządów unaczynionych.**

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

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

**Rozprawa habilitacyjna obejmuje jednotematyczny cykl 7 publikacji o łącznej punktacji:**

**Impact factor IF<sub>(2013)</sub>= 11,170;**

**Liczba punktów MNiSW=135**

**1)**

**Mirosław Banasik**, Maria Boratyńska, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Oktawia Mazanowska, Magdalena Krajewska, Marcelina Żabińska, Dorota Bartoszek, Marta Myszka, Beata Nowakowska, Tomasz Dawiskiba, Agnieszka Lepiesza, Paweł Chudoba, Marian Klinger.:

The impact of de novo donor-specific anti-human leukocyte antigen anti-bodies on 5-year renal transplant outcome

Transplant.Proc. 2013 Vol.45 no.4; s.1449-1452

IF<sub>2013</sub>: 0.984

Pkt. MNiSW/KBN: 15

**2)**

**Mirosław Banasik**, Maria Boratyńska, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Oktawia Mazanowska, Dorota Bartoszek, Marcelina Żabińska, Marta Myszka, Beata Nowakowska, Agnieszka Hałoń, Piotr Szyber, Dariusz Patrzalek, Marian Klinger.:

Long-term follow-up of non-HLA and anti-HLA antibodies: incidence and importance in renal transplantation

Transplant.Proc. 2013 Vol.45 no.4; s.1462-1465

IF<sub>2013</sub>: 0.984

Pkt. MNiSW/KBN: 15

**3)**

**Mirosław Banasik**, Maria Boratyńska, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Magdalena Krajewska, Oktawia Mazanowska, Dorota Kamińska, Dorota Bartoszek, Marcelina Żabińska, Marta Myszka, Beata Nowakowska, Agnieszka Hałoń, Tomasz Dawiskiba, Paweł Chudoba, Marian Klinger.:

The impact of non-HLA antibodies directed against endothelin-1 type A receptors (ETAR) on early renal transplant outcomes

Transpl.Immunol. 2014 Vol.30 no.1; s.24-29

IF<sub>2013</sub>: 1.832

Pkt. MNiSW/KBN: 20

**4)**

**Mirosław Banasik**, Maria Boratyńska, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Dorota Kamińska, Dorota Bartoszek, Marcelina Żabińska, Marta Myszka, Sławomir Zmonarski, Marcin Protasiewicz, Beata Nowakowska, Agnieszka Hałoń, Paweł Chudoba, Marian Klinger

The influence of non-HLA antibodies directed against angiotensin II type 1 receptor (AT1R) on early renal transplant outcomes.

Transpl Int. 2014 Vol.27 no.10; s.1029-38

IF<sub>2013</sub>: 3.12

Pkt. MNiSW/KBN: 35

5)

**Mirosław Banasik**, Jerzy Jabłecki, Maria Boratyńska, Dorota Kamińska, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Dorota Bartoszek, Adam Chełmoński, Agnieszka Hałoń, Wojciech Baran, Marian Klinger

Humoral immunity in hand transplantation: Anti-HLA and non-HLA response.

Hum.Immunol. 2014 Vol.75 no.8; s.859-862

IF<sub>2013</sub>: 2.282

Pkt. MNiSW/KBN: 20

6)

**Mirosław Banasik**, Maria Boratyńska, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Dorota Kamińska, Sławomir Zmonarski, Oktawia Mazanowska, Magdalena Krajewska, Dorota Bartoszek, Marcelina Żabińska, Marta Myszka, Małgorzata Kamińska, Agnieszka Hałoń, Tomasz Dawiskiba, Przemysław Szyber, Agnieszka Sas, Marian Klinger

Non-HLA antibodies: angiotensin II type 1 receptor (anti-AT1R) and endothelin-1 type A receptor (anti-ETAR) are associated with renal allograft injury and graft loss

Transplant.Proc. 2014 doi: 10.1016/j.transproceed.2014.09.029 [Epub ahead of print]

IF<sub>2013</sub>: 0.984

Pkt. MNiSW/KBN: 15

7)

**Mirosław Banasik**, Katarzyna Kościelska-Kasprzak, Marta Myszka, Dorota Bartoszek, Marcelina Żabińska, Maria Boratyńska, Dorota Kamińska, Oktawia Mazanowska, Sławomir Zmonarski, Magdalena Krajewska, Agnieszka Hałoń, Tomasz Dawiskiba, Beata Nowakowska, Marian Klinger

A Significant Role for Anti-Human Leukocyte Antigen Antibodies and Antibody-Mediated Rejection in the Biopsy-for-Cause Population

Transplant.Proc. 2014 doi: 10.1016/j.transproceed.2014.09.028 [Epub ahead of print]

IF<sub>2013</sub>: 0.984

Pkt. MNiSW/KBN: 15

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

### **Monitorowanie odpowiedzi humoralnej zależnej od przeciwciał anti-HLA oraz nie-HLA u biorców przeszczepów narządów unaczynionych.**

Przeszczepianie jest uznaną metodą leczenia. Pozwala ona na wydłużenie przeżycia chorych oraz uzyskanie jakości życia zbliżonej do tej występującej u osób zdrowych. W przypadku przeszczepiania nerek jest to najlepsza metoda leczenia chorych na schyłkową niewydolność nerek. Obecne leczenie immunosupresyjne, skierowane przeciw limfocytom T, znacznie zmniejszyło częstość epizodów ostrego odrzucania, ale nie poprawiło w sposób zadowalający czasu przeżycia przeszczepionego narządu.

Spośród wielu czynników wpływających na długość funkcjonowania przeszczepu, coraz istotniejszą rolę przypisuje się przeciwciałom anti-HLA, które w sposób ostry lub przewlekły mogą uszkadzać przeszczep, jednak monitorowanie ich obecności obecnie nie jest powszechnym standardem postępowania. W ostatnim czasie zwrócono uwagę na krótsze przeżycie przeszczepu u pacjentów z obecnością przeciwciał, które nie były swoiste dla antygenów HLA, nazwano je przeciwciałami nie-HLA. Rozwój przeciwciał jest konsekwencją nadmiernej reaktywności limfocytów B w wyniku niedostatecznej ich supresji. Przeciwciała nie-HLA skierowane są przeciwko różnym determinantom antygenowym na śródbłonku naczyń min. przeciw receptorowi typu I dla angiotensyny II (anty-AT1R) i przeciw receptorowi A dla endoteliny 1 (anty-ETAR). Znaczenie tych przeciwciał zarówno w ostrym odrzucaniu jak i w przewlekłej dysfunkcji przeszczepu nie zostało dokładnie poznane. Wyjaśnienie roli przeciwciał, wprowadzenie metod ich wykrywania do praktyki klinicznej i opracowanie algorytmu postępowania u chorych produkujących przeciwciała stanowi wyzwanie dla współczesnej transplantologii oraz może istotnie zmienić postępowanie terapeutyczne już w okresie indukcji, a w konsekwencji wydłużyć przeżycie przeszczepionego narządu.

**Cel podstawowy:**

Ocena wpływu przeciwciał anti-HLA oraz nie-HLA na funkcję przeszczepionego narządu unaczynionego.

**Cele szczegółowe:**

- 1) Długoterminowa ocena funkcji i przeżycia przeszczepu u chorych z obecnością przeciwciał anti-HLA specyficznych dla dawcy (DSA).
- 2) Analiza znaczenia obecności przeciwciał anti-HLA oraz nie-HLA w późnym okresie po przeszczepieniu nerki - pierwsza wstępna analiza.
- 3) Określenie częstości występowania oraz znaczenia przeciwciał anti-ETAR (przeciwciała przeciwko receptorowi typu A dla endoteliny 1) – pierwsza na świecie dostępna opublikowana analiza znaczenia przeciwciał anti-ETAR u chorych po przeszczepieniu nerki.
- 4) Poznanie znaczenia obecności przeciwciał anti-AT1R i ich wpływu na funkcję nerki przeszczepionej w pierwszym roku po przeszczepieniu - jedna z pierwszych na

świecie dostępnych opublikowanych analiz dotyczących oceny znaczenia przeciwciał anti-AT1R u chorych po przeszczepieniu nerki.

- 5) Zbadanie odpowiedzi humoralnej związanej z przeciwciałami anty-HLA i nie-HLA u chorych po przeszczepieniu ręki – pierwsza na świecie dostępna analiza w/w przeciwciał po przeszczepieniu ręki.
- 6) Poszukiwanie zmian morfologicznych w biopsjach nerki przeszczepionej u chorych, z obecnością przeciwciał nie-HLA oraz określenie wpływu uszkodzenia na funkcję przeszczepu.
- 7) Określenie znaczenia przeciwciał anty-HLA oraz odrzucania zależnego od przeciwciał w populacji pacjentów, u których wykonano biopsję narządu przeszczepionego ze wskazań.

#### Ad.1.

Krążące specyficzne dla dawcy przeciwciała przeciwko ludzkim antygenom leukocytarnym (human leukocyte antigen – HLA, donor specific antibodies -DSA) są kojarzone z przyspieszonym uszkodzeniem przeszczepu, ale wielu chorych z obecnością tych przeciwciał ma dobrą funkcję przeszczepu. Celem pracy było zbadanie długoterminowej funkcji oraz przeżycia przeszczepu u chorych z przeciwciałami anty-HLA, specyficznymi dla dawcy (DSA). Do naszego prospektywnego badania zakwalifikowano 78 kolejnych biorców z ujemną próbą krzyżową przed przeszczepieniem. Próbkę surowicy biorcy były testowane na obecność DSA w drugim tygodniu, a następnie w 1, 3, 6, 9 i 12 miesiącu po przeszczepieniu, przy użyciu metody limfocytotoksyczności zależnej od dopełniacza (CDC) z użyciem limfocytów dawcy. Dodatkowo u chorych z obecnością DSA i stabilną funkcją nerki w pierwszym roku, przeprowadzono analizę czulszą metodą cytometrii przepływowej flow-panel-reactive antibody (Flow-PRA). DSA były obecne u 34 (44%) chorych w ciągu pierwszych 12 miesięcy po przeszczepieniu. Ostre odrzucanie potwierdzone biopsyjnie pojawiło się u 11 DSA-dodatnich i u 10 DSA-ujemnych chorych. Siedmiu DSA-dodatnich chorych miało ostre odrzucanie zależne od przeciwciał, natomiast nikt z DSA-ujemnych chorych nie rozwinął odrzucania humoralnego. Stężenie kreatyniny u DSA-dodatnich było znacząco wyższe (2.48 vs. 1.43mg/dL) w 5. roku. Trzynastu (38%) DSA-dodatnich chorych z dobrą funkcją przeszczepu w 12 miesiącu miało stabilną funkcję w pięcioletniej obserwacji: stężenie kreatyniny wynosiło  $1.46 \pm 0.4$  w 1. roku oraz  $1.56 \pm 0.4$  mg/dL w 5. Roku, a nikt nie utracił przeszczepu. Jednoroczne i pięcioletnie przeżycie wynosiły odpowiednio 85% i 59% u

chorych DSA-dodatnich oraz 93% i 93% u chorych DSA-ujemnych. Przeciwciała DSA pojawiające się po przeszczepieniu miały znaczący wpływ na funkcję nerki oraz przeżycie przeszczepu, ale u 38% chorych obecność DSA nie pogorszyła funkcji w pięcioletniej obserwacji. Dobra funkcja alloprzeszczepu nerkowego przy obecności DSA w pierwszym roku po przeszczepieniu oraz ustanie ich aktywności w następnych latach może być dobrym wskaźnikiem prognostycznym dla długoterminowej funkcji i przeżycia alloprzeszczepu.

## Ad.2.

Wykrycie uszkodzenia zależnego od przeciwciał staje się coraz bardziej istotne w opiece nad chorym po przeszczepieniu. Rola specyficznych dla dawcy przeciwciał przeciwko ludzkim antygenom leukocytarnym (human leukocyte antigen – HLA, donor specific antibodies - DSA) w uszkodzeniu nerki po przeszczepieniu jest znana, podczas gdy znaczenie przeciwciał nie-HLA pozostaje kwestią nierozwiązaną. Celem pracy było określenie obecności i wpływu na funkcję nerki przeszczepionej przeciwciał nie-HLA oraz anti-HLA u stabilnych chorych po pięciu latach od przeszczepienia. Ocenialiśmy obecność przeciwciał u 35 kolejnych chorych ze stabilną funkcją przeszczepu po pięciu latach od przeszczepienia. Przedprzeszczepowa kontrola obecności DSA przy użyciu próby krzyżowej CDC była ujemna u wszystkich chorych. Przeciwciała antyendotelialne (AECA), przeciwciała przeciw receptorowi typu 1 dla angiotensyny II (anti-AT1R) oraz przeciw receptorowi A dla endoteliny 1 (anti-ETAR) były oznaczane jako przeciwciała nie-HLA. Przeciwciała nie-HLA były obserwowane u 12 (34%) chorych, włączając AECA ( $n = 5$ ; 14%), anti-AT1R ( $n = 6$ ; 17%), anti-ETAR ( $n = 4$ ; 11%) oraz wspólne występowanie anti-AT1R i anti-ETAR ( $n = 3$ ). Wśród 13 (37%) chorych z przeciwciałami anti-HLA 7 miało również nie-HLA: AECA ( $n = 1$ ), anti-AT1R ( $n = 3$ ) oraz anti-ETAR ( $n = 3$ ). Grupa chorych bez przeciwciał (Abs-neg,  $n=13$ ) miała znacząco lepszą funkcję nerki przeszczepionej niż grupa z obecnością przeciwciał (nie-HLA i/lub anti-HLA; Abs-pos,  $n = 22$ ). Ostre odrzucanie zależne od przeciwciał pojawiło się u 2 z 13 (15%) Abs-neg vs. 8 z 22 (36%) Abs-pos chorych. Prezentowane wstępne badania ujawniły znaczące występowanie alloprzeciwciał i autoprzeciwciał wśród stabilnych chorych, po pięciu latach od przeszczepienia. Podsumowując stwierdzono, że produkcja przeciwciał i ich powiązanie z obniżoną funkcją nerki sugerują, że aktywna humoralna odpowiedź jest słabo kontrolowana przez immunosupresję.

### Ad.3.

Przeciwciała nie-HLA przeciw receptorom naczyniowym mogą mieć wpływ na uszkodzenie nerki przeszczepionej. Przeciwciała przeciw receptorowi typu A dla endoteliny 1 (anty-ETAR) były opisywane jako mające znaczenie w komórkowym i zależnym od przeciwciał odrzucaniu oraz mogą wiązać się z wcześniejszym początkiem waskulopatii u chorych po przeszczepieniu serca, ale ich rola w przeszczepianiu nerek pozostaje niejasna. Celem pracy była ocena występowania i znaczenia przeciwciał anty-ETAR oraz ich wpływ na przeszczep nerki w czasie pierwszego roku po przeszczepieniu. Ocenialiśmy obecność przeciwciał anty-ETAR u 116 kolejnych biorców nerki przeszczepionej w okresie przed i po przeszczepowym (1, 3, 6, 12 miesiąc). Dodatkowo ocenialiśmy obecność przeciwciał anty-HLA. Przeciwciała anty-ETAR były oznaczane metodą ELISA. Ostre odrzucanie było oceniane na podstawie kryteriów Banff. Anty-ETAR były obserwowane u 55 (47.4%) analizowanych biorców przed przeszczepieniem. Funkcja przeszczepionej nerki była znacząco gorsza w grupie anty-ETAR(+) w pierwszym roku po przeszczepieniu. W pierwszym miesiącu po przeszczepieniu stężenie kreatyniny u chorych anti-ETAR(+) wynosiło  $1.86 \pm 0.8$  oraz  $1.51 \pm 0.5$  mg/dl u anty-ETAR(-) ( $p=0.009$ ). Dwanaście miesięcy po przeszczepieniu różnica między grupami była stale obserwowana  $1.70 \pm 0.7$  vs.  $1.40 \pm 0.4$  mg/dl ( $p=0.04$ ). Potwierdzone biopsyjnie ostre odrzucanie było rozpoznane u 8/55 (14.5%) w grupie ETAR(+) oraz 9/61 (14.8%) w ETAR(-), ale przypadki łagodnych do ciężkich zmian zapalnych w tętnicach (intimal arteritis; v1-v3) były częściej obserwowane u chorych z obecnością anty-ETAR 4/55 (7.2%) w porównaniu do 1/61 (1.6%) u anty-ETAR(-). W podsumowaniu stwierdzono, że obecność przeciwciał anty-ETAR wiąże się z gorszą funkcją nerki przeszczepionej w pierwszych dwunastu miesiącach po przeszczepieniu. Wprowadzenie przeciwciał anty-ETAR do diagnostyki statusu immunologicznego biorców nerki przeszczepionej powinno być rozważane celem pełnej oceny aktywności humoralnej.

### Ad.4.

Przeciwciała nie-HLA przeciw receptorom naczyniowym są rozważane jako mające wpływ na uszkodzenie przeszczepionej nerki. Doniesienia sugerują stymulowanie ciężkiego odrzucania naczyniowego przez przeciwciała nie-HLA przeciw receptorowi typu 1 dla angiotensyny II (anty-AT1R), ale badania przesiewowe przedtransplantacyjne nie zostały jeszcze powszechnie zaakceptowane ani wprowadzone do codziennej praktyki klinicznej.



Celem naszej pracy była analiza występowania oraz znaczenia przeciwciał anti-AT1R oraz ich wpływ na przeszczep nerki w pierwszym roku obserwacji. Prospektywnie ocenialiśmy obecność przeciwciał anti-AT1R u 117 kolejnych biorców nerki przeszczepionej w badaniach przed- oraz po przeszczepieniu. Przeciwciała Anti-AT1R były obserwowane u 27/117 (23%) biorców już przed przeszczepieniem. Funkcja nerki przeszczepionej była znacznie gorsza w grupie anti-AT1R(+). Chorzy z anti-AT1R >9U/ml tracili przeszczep częściej (11.1% vs. 1.1% ; p=0.011). Ostre odrzucanie potwierdzone biopsyjnie było opisywane u 4/27 (15%) chorych w grupie anti-AT1R(+) oraz u 13/90 (14.4%) w anti-AT1R(-), ale cięższe zmiany określone jako Banff IIB lub odrzucanie zależne od przeciwciał (AMR) były częściej obserwowane u anti-AT1R(+) 4/27 (15%) vs. 1/90 (1.1%) u anti-AT1R(-) (P = 0.009). Chorzy z przeciwciałami anti-AT1R z poziomem >9 U/ml mieli wyższe ryzyko niewydolności przeszczepu niezależnie od klasycznych immunologicznych czynników ryzyka, a biorcy anti-AT1R(+) rozwinęli więcej cięższych ostrych odrzuczeń opisywanych jako IIB lub AMR w klasyfikacji Banff. Więcej biorców anti-AT1R(+) utraciło przeszczep. Badanie sugeruje monitorowanie obecności przeciwciał anti-AT1R przed przeszczepieniem celem oceny profilu immunologicznego ryzyka oraz identyfikacji pacjentów bardziej podatnych na niekorzystne wydarzenia immunologiczne, niewydolność oraz utratę przeszczepu.

#### Ad.5.

Rola przeciwciał anti-HLA jak również non-HLA jest rozważana w przeszczepach narządowych, ale jak dotąd nie była analizowana w alloprzeszczepach tkanek złożonych. Zdecydowaliśmy się ocenić obecność i rolę przeciwciał anti-HLA oraz nie-HLA po przeszczepieniu ręki. Oznaczyliśmy przeciwciała anti-HLA oraz nie-HLA u 5 kolejnych chorych po przeszczepieniu ręki. Obecność przeciwciał anti-HLA była sprawdzana przy użyciu metody cytometrii przepływowej flow-PRA. Przeciwciała nie-HLA zostały zdefiniowane jako przeciwciała antyendotelialne (AECA), przeciwciała przeciw receptorowi typu 1 dla angiotensyny II (anti-AT1R) oraz przeciw receptorowi typu A dla endoteliny 1 (anti-ETAR). Przeciwciała anti-HLA były obecne w klasie I u jednego chorego, a u innego w klasie II. Obaj chorzy rozwinęli jeden epizod ostrego odrzucania. AECA były obecne u jednego biorcy z graniczną aktywnością. Zarówno anti-AT1R jak i anti-ETAR zostały wykryte jako silnie dodatnie u jednego chorego, który wielokrotnie rozwinął epizody ostrego odrzucania. Obecność przeciwciał nie-HLA (anti-AT1R i anti-ETAR) oraz wystąpienie

licznych epizodów odrzucania u jednego chorego wymaga dalszych badań, celem potwierdzenia prawdopodobnej roli aktywności humoralnej w alloprzeszczepach tkanek złożonych.

#### Ad.6.

Przeciwciała nie-HLA przeciw receptorowi typu A dla endoteliny 1 (anty-ETAR) oraz przeciw receptorowi typu 1 dla angiotensyny II (anty-AT1R) komórek naczyniowych aktywują szlaki sygnalizacyjne prowadzące do proliferacji komórek oraz uszkodzenia naczyń. Celem pracy była ocena wpływu przeciwciał nie-HLA na morfologię i funkcję alloprzeszczepu nerkowego chorych, u których przeprowadzono biopsję przeszczepu z powodu pogorszenia funkcji nerki przeszczepionej. Do badania zakwalifikowano 65 kolejnych chorych po przeszczepieniu nerki, u których oceniano obecność przeciwciał nie-HLA oraz anty-HLA w czasie wykonania biopsji. Przedprzeszczepowa próba krzyżowa była ujemna u wszystkich badanych. Biopsja przeszczepu została wykonana między 6 dniem a 13 rokiem (średnio  $42 \pm 49$  miesięcy) po przeszczepieniu, a diagnoza została postawiona na podstawie kryteriów Banff. Wartość dodatnia przeciwciał anty-AT1R i anty-ETAR została ustalona przy poziomie  $>9$  U/L. Wysoki poziom przeciwciał nie-HLA (anty-AT1R i/lub anty-ETAR) został stwierdzony u  $7/65$  (10.7%) chorych w czasie wykonywania biopsji. Utrata przeszczepu u chorych nie-HLA(+) była znacząco wyższa (71% u nie-HLA(+) po  $7.8 \pm 2.6$  miesiącach vs. 11% po 6 miesiącach u nie-HLA(-)  $p=0.00099$ ). U wymienionych nie-HLA(+) chorych średni poziom anty-AT1R wyniósł  $15.3 \pm 9.4$  U/L, a anty-ETAR  $13.8 \pm 8.6$  U/L. Tylko u 2 z wymienionych chorych przeciwciała anty-HLA były dodatkowo obecne : wobec klasy I u jednego oraz wobec klasy II u obu chorych. Wczesna biopsja ujawniła ostre naczyniowe odrzucanie (Banff IIB). Przewlekłe uszkodzenie alloprzeszczepu (grading cg1-3, cv1-2, ci1-2, ct1-2) zostało stwierdzone u pozostałych 6 chorych. Fragment C4d dopełniacza był obecny u  $3/7$  chorych. Wysoki poziom przeciwciał anty-AT1R i/lub anty-ETAR jest związany z morfologicznym, a także funkcjonalnym uszkodzeniem przeszczepu oraz utratą nerki przeszczepionej. Przeciwciała nie-HLA mogą być pomocne w ocenie ryzyka uszkodzenia przeszczepu.

#### Ad.7.

Rola przeciwciał anty-HLA oraz odrzucania zależnego od przeciwciał wydaje się dobrze znana, ale zrozumienie oraz działania prewencyjne, które podejmują klinicyści wydają się

niewystarczające. Jedną z głównych przyczyn przedwczesnej utraty nerki przeszczepionej jest nadaktywność immunologiczna biorcy wobec antygenów dawcy. Monitorowanie alloreaktywności humoralnej daje nadzieje na wczesną diagnozę i adekwatną terapię. Celem analizy była ocena wpływu przeciwciał anti-HLA na funkcję oraz przeżycie przeszczepu. Do badania zakwalifikowano 60 kolejnych biorców nerki przeszczepionej, którzy mieli wykonaną biopsję nerki przeszczepionej ze wskazań z powodu pogorszenia funkcji. Biopsja została przeprowadzona między 7 dniem a 12 rokiem (mediana 2 lata) po przeszczepieniu. Przeciwciała anti-HLA zostały stwierdzone u 20 chorych (33%). Chorzy zostali podzieleni na dwie grupy w zależności od obecności przeciwciał anti-HLA. W dwunastomiesięcznej obserwacji 10/20 (50%) chorych w grupie anti-HLA(+) powróciło na dializy, natomiast w grupie anti-HLA(-) 7/40 (17.5%) chorych [ $p=0.014$ ]. Wśród chorych, którzy utracili przeszczep 8/10 (80%) anti-HLA(+) miało anti-HLA w klasie II a tylko 2/10 (20%) w klasie I. Przeciwciała anti-HLA były specyficzne dla dawcy (donor specific antibodies-DSA) u 8/10 (80%) chorych, którzy utracili przeszczep. Przeciwciała anti-HLA pojawiły się de novo u 50% chorych, którzy utracili przeszczep. Nieadekwatność terapii (nonadherence) była podejrzewana u 50% spośród tych chorych. Ostre odrzucanie zależne od przeciwciał pojawiło się u 1 chorego. Cechy przewlekłego aktywnego odrzucania humoralnego stwierdzono u 8/10 (90%). Badanie ujawniło, że utrata przeszczepu może sięgać 50% w 12- miesięcznej obserwacji u chorych, u których wykonano biopsję ze wskazań. Brak adherencji był wysoki i osiągnął 50%. Monitorowanie biorców nerki przeszczepionej oraz indywidualizacja terapii przy rozważaniu aktywności humoralnej powinna wydłużyć przeżycie przeszczepu nerkowego.

### **Wykorzystanie osiągniętych wyników:**

Monitorowanie odpowiedzi immunologicznej jest obecnie jednym z najbardziej obiecujących celów w opiece nad pacjentem po przeszczepieniu. Naukowcy i klinicyści próbują wydłużyć przeżycie przeszczepu, co w sytuacji braku organów do przeszczepienia jest szczególnie istotne. W ostatnich latach zmniejsza się znaczenie nefrotoksyczności jako przyczyny niewydolności przeszczepu, a zwiększa się rola odpowiedzi humoralnej. Takie rozpoznanie diametralnie zmienia postępowanie klinicysty. W przypadku nefrotoksyczności konieczne było zmniejszenie dawki inhibitora kalcyneuryny, natomiast w przypadku rozpoznania

aktywności zależnej od przeciwciał właściwym postępowaniem powinno być zwiększenie immunosupresji. W przyszłości oczekujemy terapii celowanej.

#### Ad.1.

Powstające de novo DSA miały znacząco niekorzystny wpływ na niewydolność przeszczepu, ale u ponad jednej trzeciej pacjentów z obecnością DSA nie obserwowano pogorszenia funkcji przeszczepu w pięcioletniej obserwacji. Dobra funkcja nerki przeszczepionej przy obecności DSA w pierwszym roku po transplantacji i ustanie ich aktywności w kolejnych latach, może być dobrym markerem prognostycznym dla funkcji przeszczepu i długoterminowego przeżycia. Długoterminowe wyniki transplantacji nerek mogą być poprawione dzięki rutynowemu monitorowaniu DSA, które powinno pomóc zidentyfikować pacjentów wymagających wczesnej interwencji.

#### Ad.2.

Wstępne dane wykazały częste występowanie autoprzeciwciał i alloprzeciwciał u pacjentów po przeszczepieniu nerki w pięcioletniej obserwacji. Związek przeciwciał z czynnością nerek sugeruje aktywną humoralną odpowiedź immunologiczną, która była słabo kontrolowana przez immunosupresję. Długookresowa ocena uczulenia przed przeszczepieniem i monitorowanie odpowiedzi humoralnej po przeszczepieniu powinny pomóc lepiej zrozumieć wymienione procesy.

#### Ad.3.

Badania sugerują monitorowanie przeciwciał anti-ETAR przed i po przeszczepieniu nerek celem oceny profilu ryzyka immunologicznego i identyfikacji chorych bardziej podatnych na immunologiczne zdarzenia, glomerulopatię i utratę przeszczepu. Przeciwciała skierowane przeciw receptorom naczyniowym ETAR mogą być użyteczne jako nowe biomarkery u biorców przeszczepów zagrożonych nadmierną alloimmunologiczną aktywnością. Wykrywanie i monitorowanie przeciwciał anti-ETAR może pomóc w całościowej immunologicznej ocenie biorcy. Wymagane są dalsze badania celem potwierdzenia wyników i ustalenia postępowania diagnostycznego, a w przyszłości może nawet terapii celowanej. Antagoniści farmakologiczni ETAR mają zastosowanie w leczeniu tętniczego nadciśnienia płucnego, ale również w innych chorobach. Plazmaferezy lub immunoadsorpcja są znane i powszechnie akceptowane w redukcji miana przeciwciał.

Ad.4.

Obserwacje wskazują, że pacjenci z poziomem przeciwciał anti-AT1R > 9 U/ml wykazują większe ryzyko niepowodzenia przeszczepu, niezależnie od klasycznych immunologicznych czynników ryzyka. Biorcy z anti-AT1R rozwinęli cięższe ostre odrzucanie opisywane jako IIB lub AMR w klasyfikacji Banff. Chorzy anti-AT1R(+) w większym odsetku utracili przeszczep. Nasze badanie sugerują monitorowanie przeciwciał anti-AT1R przed przeszczepieniem nerki, celem oceny profilu ryzyka immunologicznego oraz identyfikacji chorych zagrożonych niewydolnością i utratą przeszczepu. Receptor AT1 jest znanym celem nowych terapii lekowych. Plazmaferezy, immunoadsorpcja, dożylna immunoglobulina i rituksymab mogą zmniejszyć miano przeciwciał. Dalsze badania są konieczne przed ustanowieniem standardów diagnostycznych i terapeutycznych, a może nawet wprowadzeniem terapii celowanych w przyszłości.

Ad.5.

Jako pierwsi wykazaliśmy obecność przeciwciał anti-AT1R i anti-ETAR u chorego z obustronnym przeszczepieniem ręki, który rozwinął sześciokrotnie epizody ostrego odrzucania. Obserwacja ta sugeruje monitorowanie nie tylko przeciwciał anti-HLA, ale również przeciwciał nie-HLA przed i po przeszczepieniu ręki, celem oceny profilu ryzyka immunologicznego.

Ad.6.

Badania wykazały, że wysokie poziomy przeciwciał anti-AT1R i/lub przeciwciał anti-ETAR są związane z morfologicznym i funkcjonalnym uszkodzeniem przeszczepionej nerki i utratą przeszczepu. Przeciwciała nie-HLA przeciw receptorom naczyniowym mogą stać się nowymi biomarkerami w ocenie ryzyka niepożądanych zdarzeń alloimmunologicznych.

Ad.7.

Analizy wykazały, że u chorych poddanych biopsji ze wskazań, u których stwierdzono przeciwciała anti-HLA, utrata przeszczepu może osiągnąć 50% w czasie 12 miesięcznej obserwacji. Obecność przeciwciał anti-HLA wiąże się z przedwczesną niewydolnością oraz utratą przeszczepu. Monitorowanie obecności przeciwciał anti-HLA po przeszczepieniu nerki powinno przyczynić się do wczesnego wykrycia pacjentów narażonych na uszkodzenie

przeszczepu. Indywidualizacja terapii z uwzględnieniem aktywności humoralnej powinna przedłużyć przeżywalność przeszczepionych nerek.

**Wniosek końcowy:**

Przeciwciała anti-HLA, ale również nie-HLA (anti-AT1R oraz anti-ETAR) mogą odgrywać istotną rolę w uszkodzeniu przeszczepu. Nasze obserwacje sugerują monitorowanie nie tylko przeciwciał anti-HLA, ale również non-HLA celem oceny pełnego profilu ryzyka immunologicznego. Zaletą identyfikacji pacjentów bardziej zagrożonych aktywnością czynników immunologicznych i utratą przeszczepu może być zastosowanie silniejszej immunosupresji. Z drugiej strony, pacjenci z niskim ryzykiem odpowiedzi humoralnej mogą skorzystać na zmniejszeniu ogólnej dawki immunosupresji, a w konsekwencji redukcji jej skutków ubocznych. Terapia celowana jest potencjalnym tematem do badań oraz nadzieją na wydłużeniu okresu funkcjonowania przeszczepu.

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

Sumaryczny impact factor (IF) moich publikacji wynosi 34.918 przy punktacji MNiSW 437.

Liczba cytowań:

- według bazy Web of Science wynosi 161, indeks Hirscha 7,
- według bazy Web of Science Core Collection wynosi 111, indeks Hirscha 6,
- według bazy Scopus wynosi 160, indeks Hirsha 7 .

Pierwszym autorem jestem w 17 publikacjach, a drugim autorem jestem w 8 publikacjach.

Publikacje, które nie wchodzi w skład osiągnięcia naukowego zostały wymienione w oddzielnym wykazie.

Po wyłączeniu 7 prac oryginalnych stanowiących podstawę rozprawy habilitacyjnej mój dorobek naukowy obejmuje:

- 14 prac oryginalnych, pełnotekstowych w czasopismach posiadających impact factor publikowanych w języku angielskim,
- 7 prac oryginalnych, pełnotekstowych w czasopismach bez impact factor,
- 3 opisy przypadków,
- 4 prace przeglądowe.

Jestem pierwszym autorem lub współautorem licznych streszczeń przedstawianych jako prezentacje ustne lub plakatowe, 28 razy podczas zjazdów międzynarodowych oraz 51 razy podczas zjazdów krajowych (wykaz w załączeniu). Prezentowałem streszczenia podczas

licznych międzynarodowych spotkań min. w Pradze, Wiedniu, Dreźnie, Istambule, Glasgow czy Berlinie.

Recenzowałem artykuły w czasopismach:

- Biomarkers,
- Sensors,
- Human Immunology.

Byłem kierownikiem grantu w ramach badań własnych uczelni pt. „Znaczenie alloprzeciwciał skierowanym przeciwko powierzchniowym cząsteczkom na limfocytach dawcy w odrzucaniu przeszczepu i zjawisku akomodacji.”

Obecnie kieruję grantem dla młodych naukowców PB Mn 102 : „Wpływ przeciwciał anty-HLA i nie-HLA na wyniki przeszczepiania”.

Otrzymałem stypendium naukowe dla młodych doktorów w ramach projektu współfinansowanego przez Unię Europejską w 2010r.

Współuczestniczę w grantach międzynarodowych:

1. CKD-BIO study (Chronic Kidney Disease-BIO study)
2. iMODE - CKD program of FP7 educational study (Initial Training Networks (ITN) Marie Curie Actions.

Za działalność naukową otrzymałem następujące nagrody i wyróżnienia:

1. Nagroda Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu, zespołowa za cykl prac na temat leczenia nerkozastępczego, 2006r.
2. Nagroda Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu, zespołowa za cykl prac dotyczących leczenia schyłkowej niewydolności nerek za pomocą przeszczepienia nerki, 2007r.
3. Nagroda Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu, zespołowa za cykl monotematycznych publikacji dotyczących problemu dostępu naczyniowego dla celów przewlekłej hemodializy, 2009r.
4. Nagroda Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu, zespołowa za cykl publikacji dotyczących problemów związanych z transplantacją nerek, 2010r.

5. Nagroda Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, zespołowa za cykl prac dotyczących problematyki chorych leczonych nerkozastępczo dializami i przeszczepieniem nerek, ze szczególnym uwzględnieniem czynników wpływających na przeżycie chorych, 2013r.
6. Nagroda European Renal Association –European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA) za pracę prezentowaną na kongresie w Istambule, 2013r.
7. Nagroda European Renal Association –European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA) za najlepszą pracę nadesłaną na kongres PTN, 2013r.
8. Nagroda zespołowa Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego PRO TRANSPLANTATIONIBUS FOVENDIS za cykl 15 prac naukowych o łącznym wskaźniku IF = 24,707 , Kraków, 2009r.
9. Nagroda Polskiego Towarzystwa Nefrologicznego, za najlepszą pracę prezentowaną podczas sesji plakatowej, konferencja PTN, Olsztyn-Ryn 2012r.
10. Nagroda Polskiego Towarzystwa Nefrologicznego, I nagroda za najlepszą nadesłaną pracę na XI Kongres PTN, Wrocław 2013r.
11. Nagroda Polskiego Towarzystwa Nefrologicznego, I nagroda za najlepszą pracę plakatową prezentowaną na XI Kongresie PTN, Wrocław 2013r.
12. Wyróżnienie Polskiego Towarzystwa Nefrologicznego, za pracę prezentowaną podczas sesji plakatowej na XI Kongresie PTN, Wrocław 2013r.

Uczestniczyłem w licznych stażach i szkoleniach zagranicznych min.:

1. Postgraduate Training Course in Nephrology organizowany przez European Renal Association –European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA), Prague, 2004.
2. Early Morning Course Applied Immunology organizowany przez The Transplantation Society, Vienna, 2004.
3. University of Central Lancashire, Preston, UK, May-August 2005.
4. Department of Renal Transplant, Central Manchester University Hospital, Manchester Royal Infirmary, clinical placement, Manchester, 2005.
5. Department of Nephrology and Dialysis, University Hospital Aintree, UK, clinical placement, Liverpool, 2005.
6. Hesperis course organizowany przez European Society of Transplantation (ESOT), Lyon/Malmö, 2006/2007.



7. The 6st Transplant Academy, Chateau St. Gerlach, 2009 .
8. Transplantation Academy in Maastricht, Maastricht University Hospital, 2010.
9. Kidney Transplant Training Workshop, Department of Nephrology and Transplantation, Charite Campus Mitte, Berlin, 2010.

Jestem członkiem następujących towarzystw naukowych:

- Polskie Towarzystwo Nefrologiczne,
- Polskie Towarzystwo Transplantacyjne,
- European Renal Association –European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA)
- American Society of Nephrology.

### **Działalność dydaktyczna**

Od 2011 roku jestem adiunktem dydaktycznym Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej UM we Wrocławiu.

Prowadzę zajęcia dydaktyczne ze studentami III, IV i V roku Wydziału Lekarskiego oraz III i IV roku Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego, w grupach polsko- oraz anglojęzycznych.

Aktywnie uczestniczę w szkoleniu podyplomowym lekarzy prowadząc wykłady w ramach kursów specjalizacyjnych. Stale prowadzę wykłady w ramach Podyplomowej Szkoły Nefropatii.

Jestem członkiem wydziałowej komisji dydaktycznej WLKP Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu oraz członkiem międzywydziałowej komisji dydaktycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Zostałem powołany na Członka Państwowej Komisji Egzaminacyjnej w dziedzinie Nefrologia.

Jestem współautorem rozdziału pt. „Przewlekłe odrzucanie przeszczepionej nerki” w Transplantologii Praktycznej wydanej przez Wydawnictwo Czelej w 2008r.

Zostałem zaproszony do wygłoszenia wykładów:

- 1) The role of non-HLA antibodies in renal transplantation w ramach One Lambda’s annual international workshop. 19-23.05.2014r., Marbella, Spain.

oraz

2) Wpływ odpowiedzi humoralnej zależnej od przeciwciał anty-HLA oraz non-HLA na funkcję nerki przeszczepionej w ramach konferencji pt. Możliwości diagnostyczne oceny ryzyka immunologicznego biorcy. 08.10.2014r. Warszawa.

### **Działalność organizacyjna i popularyzująca naukę**

W latach 2005-2008 byłem członkiem Senatu Akademii Medycznej we Wrocławiu.

Byłem organizatorem pierwszego Samorządu Doktorantów AM we Wrocławiu.

Od 2004 roku do chwili obecnej (trzecia kadencja) jestem członkiem Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Uczestniczyłem w pracach komisji senackich, komisji wydziałowych (ds. dydaktyki, ds. obsady stanowisk kierowników klinik) oraz międzywydziałowej komisji ds. dydaktyki.

W roku 2004 byłem inicjatorem, założycielem, pierwszym wiceprezesem a obecnie prezesem Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Dolnośląskiej Nefrologii, Dializoterapii i Transplantologii PRO RENIS. Stowarzyszenie wśród głównych celów obok pomocy chorym dializowanym, po przeszczepieniu oraz przewlekle chorym na nerki, wspiera rozwój nauki i dydaktyki min. współorganizując XI Zjazd Polskiego Towarzystwa Nefrologicznego oraz cykliczne Sympozja Polsko-Niemiecko-Czeskie. Wśród istotnych wydarzeń popularyzujących naukę wspieranych przez Stowarzyszenie PRO RENIS należy również wymienić konferencję „Studenci o przeszczepach”, która odbyła się w 2012 r. oraz fotoreportaż „Nerkowcy” będący wywiadem-wystawą opisującą problemy chorych dializowanych oraz po przeszczepieniu nerki.

Byłem członkiem komitetu organizacyjnego XI Zjazdu Polskiego Towarzystwa Nefrologicznego, który odbył się we Wrocławiu w 2013r.

Jestem członkiem Young Nephrology Platform, czyli platformy młodych nefrologów przy European Renal Association –European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA), której zadaniem jest min. popularyzowanie wiedzy o chorobach nerek.

Wrocław, 25.10.2014r.

.....