Gdańsk, 19 października 2021

dr n. med. Grażyna Moszkowska
Katedra i Zakład Immunologii Medycznej
Wydział Lekarski
Gdański Uniwersytet Medyczny
e-mail: gramos@gumed.edu.pl

Autoreferat

Spis treści

1 Imię i nazwisko **3**

2 Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej **3**

3 Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych **3**

4 Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). **3**
4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego 3
4.2 Wykaz publikacji stanowiących cykl habilitacyjny 4
4.3 Omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania: 5

5 Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej **28**
5.1 Udział w realizacji projektów we współpracy z naukowcami z innych ośrodków . 28
5.2 Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi 29

6 Dorobek dydaktyczny **29**
6.1 Zajęcia dydaktyczne na Uczelni 29
6.2 Osiągnięcia dydaktyczne w zakresie popularyzacji nauki 30
6.3 Opieka nad lekarzami i diagnostami laboratoryjnymi w toku specjalizacji 30
6.4 Opieka naukowa nad pracami licencjackimi, magisterskimi oraz doktorantami w charakterze promotora pomocniczego 30

7 Staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich **31**

8 Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych 32

9 Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych 32

10 Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową 33

11 Wygłaszanie referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych 33

12 Uczestnictwo w programach europejskich, informacja o współpracy międzynarodowej habilitanta 34

13 Kursy i udział w konferencjach szkoleniowych 34

14 Wykonane ekspertyzy 36

15 Inne osiągnięcia 37
15.1 Osiągnięcia organizacyjne 37
15.2 Otrzymane nagrody i wyróżnienia 39

16 Analiza bibliometryczna (05.10.2021) 40

1 Imię i nazwisko

Grażyna Moszkowska

2 Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej

- 2008: tytuł specjalisty w zakresie laboratoryjnej immunologii medycznej
- 1992: dyplom doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej, WL Akademii Medycznej w Gdańsku, tytuł rozprawy doktorskiej „Fibronektyna tkankowa i osoczowa w rakach sutka"
- 1976: dyplom magistra biologii, Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, kierunek biologia

3 Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 2008 – dziś: st. specjalista, Katedra i Zakład Immunologii Medycznej Gdański Uniwersytet Medyczny
- 2008 – dziś: kierownik Laboratorium Immunologii i Transplantologii Klinicznej, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne w Gdańsku
- 1986 – 2008: specjalista, Zakład Immunopatologii, Akademia Medyczna Gdańsk
- 1976 – 1986: młodszy asystent, Samodzielna Pracownia Immunologii/Zakład Immunopatologii, Państwowy Szpital Kliniczny Nr 1 w Gdańsku

4 Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Szacowanie ryzyka transplantacji nerek w oparciu o badania immunologiczne.

Osiągnięcie naukowe stanowi zbiór 6 powiązanych tematycznie publikacji, zawierający oryginalne artykuły opublikowane w recenzowanych czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR), o łącznej punktacji IF: 11.73 MEiN: 197.00

4.2 Wykaz publikacji stanowiących cykl habilitacyjny

1 Zielińska Hanna, **Moszkowska Grażyna**, Zieliński Maciej, Dębska-Ślizień Alicja, Rutkowski Bolesław, Trzonkowski Piotr: Algorithm to manage highly sensitized kidney transplant recipients in Poland; *Transplant. Proc.*; 2011 : vol. 43, s. 2903-2907.
Impact Factor: 1.005; Punktacja MEiN: 20.000
Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, udziale w opracowaniu protokołu badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, współautorstwie manuskryptu i ostatecznej wersji

2 **Moszkowska Grażyna**, Zielińska Hanna, Zieliński Maciej, Dukat-Mazurek Anna, Dębska-Ślizień Alicja, Rutkowski Bolesław, Lewandowska Dorota, Danielewicz Roman, Trzonkowski Piotr: Identification of patients with increased immunological risk among potential kidney recipients in the Polish population; *Hum. Immunol.*; 2014 : vol. 75, nr 7, s. 650-655.
Impact Factor: 2.138; Punktacja MEiN: 20.000
Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, udziale w opracowaniu protokołu badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, autorstwie manuskryptu i ostatecznej wersji artykułu

3 **Moszkowska Grażyna**, Zieliński Maciej, Zielińska Hanna, Dukat-Mazurek Anna, Dębska-Zielkowska Joanna, Dębska-Ślizień Alicja, Rutkowski Bolesław, Trzonkowski Piotr: Evaluation of pretransplant donor-specific alloantibodies with different crossmatch techniques; *Transplant. Proc.*; 2018 : vol. 50, nr 6, s. 1625-1630.
Impact Factor: 0.959; Punktacja MEiN: 15.000
Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, udziale w opracowaniu protokołu badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, , autorstwie manuskryptu i ostatecznej wersji

4 **Moszkowska Grażyna**, Zielińska Hanna, Zieliński Maciej, Gołębiewska Justyna, Bzoma Beata, Sakowska Justyna, Dębska-Ślizień Alicja, Trzonkowski Piotr: The utility of cytolytic flow cytometry crossmatch before kidney transplantation ; *Transpl. Immunol.*; 2021 : vol. 68, art. ID 101426, s. 1-5.
Impact Factor: 1.708; Punktacja MEiN: 70.000
Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, udziale w opracowaniu protokołu badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, autorstwie manuskryptu i ostatecznej wersji

5 **Moszkowska Grażyna**, Zielińska Hanna, Zieliński Maciej, Dukat-Mazurek Anna, Dębska-Zielkowska Joanna, Lewandowska Dorota, Durlik Magdalena, Dębska-Ślizień Alicja, Trzonkowski Piotr: Immune algorithm optimization for organ transplantation in Poland; *Transplant. Proc.*; 2020 : vol. 52, nr 7, s. 2026-2032.
Impact Factor: 1.066; Punktacja MEiN: 40.000
Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, udziale w opracowaniu protokołu badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, autorstwie manuskryptu i ostatecznej wersji

6 Trzonkowski Piotr, Dębska-Ślizień Alicja, Jankowska Magdalena, Wardowska Anna, Carvalho-Gaspar Manuela, Hak Łukasz, **Moszkowska Grażyna**, Bzoma Beata, Mills Natalie,

Wood Kathryn J., Myśliwska Jolanta, Rutkowski Bolesław: Immunosenescence increases the rate of acceptance of kidney allotransplants in elderly recipients through exhaustion of CD4+ T-cells; *Mech. Ageing Dev.*; 2010 : vol. 131, s. 96-104.
Impact Factor: 4.857; Punktacja MEiN: 32.000
Byłam w tej pracy kierownikiem projektu badawczego własnego N N402 420738 (Grant MNiSW/NCN). Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, udziale w opracowaniu protokołu badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, współautorstwie manuskryptu i ostatecznej wersji

Oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie publikacji, zawarto w Załączniku 5.

4.3 Omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Transplantacje są od wielu lat ustabilizowaną i jak dotąd najlepszą metodą leczenia skrajnej niewydolności nerek. Immunologiczna diagnostyka transplantacyjna jest istotnym narzędziem umożliwiającym dobór tkankowy, ocenę ryzyka odrzucania i monitorowanie funkcji przeszczepu wyprzedzające do wystąpienia objawów jego niewydolności. Zimmunizowanie potencjalnego biorcy narządu antygenami HLA ogranicza jego szansę na przeszczep z powodu trudności doboru właściwego dawcy, a wydłużony czas na liście oczekujących zwiększa ryzyko pogorszenia jego stanu zdrowia i śmierci. Wcześniejsze uczulenie może również negatywnie wpływać na bliskie i odległe wyniki potransplantacyjne. Zastosowanie nowych immunosupresyjnych leków na przełomie lat 80. i 90. XX w. umożliwiło kontrolę immunologicznej odpowiedzi zależnej od limfocytów T i pozwoliło na skuteczne obniżenie odsetka epizodów ostrego odrzucania typu komórkowego. Niemniej wyzwaniem pozostaje odrzucanie zależne od przeciwciał, a długoterminowe wyniki po transplantacji nerek nadal nie są zadowalające. Wykazano wiele czynników uczestniczących w stopniowym pogarszaniu się czynności alograftu i jego ostatecznej utracie. Badania wykazały, że ponad 60% przypadków późnej utraty przeszczepu ma związek z zależnym od przeciwciał uszkodzeniem tkanki. Prawidłowa ocena immunizacji chorego oczekującego na przeszczepienie nerki powinna pozwolić na właściwy dobór dawcy, ze zminimalizowanym ryzykiem odrzucania zależnego od przeciwciał (AMR, Antibody Mediated Rejection), równocześnie bez zabierania szansy biorcy na jak najszybszą transplantację. Przy niedoborze narządów do przeszczepu nie bez znaczenia jest także postępowanie mające na celu najlepsze ich wykorzystanie czyli przewidywaną jak najdłuższą funkcję graftu. Lista pacjentów immunizowanych rośnie wraz z upływem lat realizacji programu przeszczepiania nerek. Dlatego niezbędnym wsparciem ze strony laboratorium powinien być zrozumiały i obszerny program ilościowej i jakościowej identyfikacji aloprzeciwciał u potencjalnych biorców narządów unaczynionych.

Brak jednolitych światowych wytycznych algorytmu alokacji nerek sprawia, że konieczne jest wypracowanie własnych, krajowych zasad postępowania oraz potrzeba opracowywania i wprowadzania nowych metod usprawniających badania laboratoryjne.

Ważne dla poprawy powodzenia transplantacji nerek, jest także wskazanie zależnych od immunosenscencji biomarkerów odrzucania immunologicznego, w celu określenia w sposób zindywidualizowany dla pacjenta optymalnych dawek i typów leków immunosupresyjnych. Decyzje

terapeutyczne lekarza o tym jakie leki i w jakiej dawce zastosować wynikają z charakterystyki biorcy (zgodność tkankowa, ilościowa i jakościowa obecność aloprzeciwciał, wcześniejsze przeszczepienia, choroby współistniejące), charakterystyki dawcy (dawca optymalny – marginalny, czas niedokrwienia), doświadczenia transplantologa i dostępności leków immunosupresyjnych. W okresie potransplantacyjnym dawki leków modyfikowane są w zależności od ich stężeń we krwi, objawów niepożądanych i sytuacji klinicznej. Współczesne leki immunosupresyjne pozwalają zmniejszyć występowanie ostrego odrzucania u biorców przeszczepów narządowych, jednak wciąż ważnym problemem są działania niepożądane, zwłaszcza u chorych w podeszłym wieku. Zbyt mała immunosupresja stanowi ryzyko odrzucania, a zbyt silna sprzyja wystąpieniu infekcji oraz nowotworów. W związku z coraz większym odsetkiem dializowanych pacjentów w podeszłym wieku, wzrasta liczba starszych chorych, poddawanych przeszczepieniu nerki. Wyzwaniem jest więc zastosowanie optymalnej immunosupresji. Niestety stan układu immunologicznego biorcy nie jest rutynowo monitorowany. Z tych względów poznanie cech układu immunologicznego chorych w podeszłym wieku i być może określenie przydatnych wskaźników określających głębokość immunosupresji ma duże znaczenie kliniczne mogące być użyte do przewidywania ryzyka zachorowalności i śmiertelności u starszych. Teoretycznie wraz z wiekiem słabnie odpowiedź immunologiczna, czy jednak przekłada się to na mniejszą skłonność do odrzucania przeszczepionego narządu nie jest jasne. Niedobory w układzie odpornościowym osób starszych, które mogłyby w założeniu dać możliwość stosowania mniejszej dawki immunosupresji, nie mają jednak jedynie związku ze starzeniem się jego struktur takich jak inwolucja grasicy, zmniejszona aktywność krwiotwórcza szpiku. Starzenie indukuje mechanizmy kontrolujące, głównie dotyczące odporności nabytej, tzw. starzenia komórkowego (ang. immunosenescence) mające znaczenie dla słabszej odpowiedzi w wieku starszym. Wykazano, że jeśli limfocyty dzielą się na skutek podprogowych bodźców prozapalnych, związanych z nosicielstwem patogenów wewnątrzkomórkowych, stymulację cytokinami lub chemokinami homeostatycznym, to podziały doprowadzają do rozrostu klonów limfocytów, które zwykle nie są aloreaktywne, a często charakteryzują się anergią zmniejszającą aktywność całego układu odpornościowego. Ten sposób podziałów komórkowych (proliferacja homeostatyczna) doprowadza do wytworzenia dużej ilości komórek, które gromadzą się w narządach limfatycznych i hamują podziały puli komórek naiwnych, potencjalnie zdolnych do indukcji reakcji odrzucania. Zakładając, że starzenie się układu immunologicznego może być jedną z przyczyn braku odrzucania lub co najmniej jego znacznego opóźnienia, określenie cech układu odpornościowego odpowiedzialnych za jego reaktywność wobec przeszczepionej nerki i znalezienie wiarygodnych markerów, mogłoby pozwolić na ocenę ryzyka, siły immunosupresji i optymalizację dawki leków.

Zasadniczym celem prezentowanego cyklu artykułów było szacowanie ryzyka transplantacji nerek w oparciu o badania immunologiczne, który realizowano poprzez:

1 Wykazanie rzeczywistej liczby pacjentów zimmunizowanych zgłoszonych na Krajową Listę Oczekujących w Ustawowych Rejestrach Transplantacyjnych oraz wynikającej z tego konieczności wprowadzenia zmian w rutynowej diagnostyce immunologicznej nerek w Polsce poprzez wprowadzenie nowych testów (publikacje nr 1 i 2)

2 Udowodnienie, że przed-transplantacyjny dobór dawca/biorca nerek wymaga różnych metod weryfikujących znaczenie wykrytych aloprzeciwciał i wskazanie potrzeby opracowywania i wprowadzania nowych metod poprawiających czułość i swoistość badań laboratoryjnych (publikacja nr 3)

3 Wskazanie na kliniczną użyteczność oceny ryzyka odrzucania immunologicznymi testami diagnostycznymi (publikacja nr 4)

4 Zaproponowanie zmian w krajowym algorytmie przed-transplantacyjnej oceny immunizacji biorcy w celu uzyskania dokładniejszej informacji o ryzyku odrzucania przekazywanej przez diagnostę laboratoryjnego klinicznemu zespołowi transplantacyjnemu (publikacja nr 5)

5 Retrospektywną analizę wpływu starzenia układu immunologicznego (immunosenescencji) u biorców nerki na ryzyko ostrego odrzucania aloprzeszczepu oraz potencjalne wskazanie biomarkerów tego procesu (publikacja nr 6)

Prawidłowe wykrywanie i ocena klinicznie ważnych aloprzeciwciał jest kluczowym parametrem w realizacji programu przed-przeszczepowej identyfikacji pacjentów podwyższonego ryzyka immunologicznego, pozwalającej na odpowiednie przygotowanie biorcy oraz optymalny dobór dawcy. Określony przed przeszczepem profil aloprzeciwciał biorcy, pozwala ponadto monitorować wytwarzanie przeciwciał anty HLA po przeszczepie i pomaga w ocenie skuteczności leczenia immunosupresyjnego w przypadkach humoralnego odrzucania. W Polsce status zimmunizowania pacjentów zakwalifikowanych do przeszczepienia nerki i zgłoszonych do Krajowej Listy Oczekujących (KLO), standardowo oceniany był do października 2017 r. wyłącznie testem PRA CDC (Panel Reactive Antibodies Complement Dependent Cytotoxicity). Test ten, stosowany od lat 60-tych XX wieku, obarczony jest kilkoma wadami. Pozwala zbadać obecność przeciwciał anty HLA, ale nie identyfikuje ich klasy ani swoistości. Czułość testu zależy od żywotności komórek i jakości komplementu. Niski odsetek limfocytów B we krwi obwodowej sprawia, że słabo wykrywalne są przeciwciał anty HLA klasy II. Test wykonywany jest z komórkami od losowych dawców. Przy mało zróżnicowanym panelu limfocytów użytych do testu wynik nie odzwierciedla prawdziwego stopnia uczulenia chorego, a ocena tej samej surowicy w kilku ośrodkach może być, w zależności od użytych komórek, skrajnie różna. Dodatkowym problemem są fałszywie pozytywne wyniki spowodowane obecnością aloprzeciwciał nie-HLA wiążących dopełniacz oraz autoprzeciwciał, prawdopodobnie nieistotnych dla losów przeszczepu. Wymienione ograniczenia oznaczają, że stopień uczulenia pacjenta nie powinien być określany jedynie w oparciu o test PRA CDC, a stosowana rutynowo metoda może być przyczyną niepełnego oszacowania grupy pacjentów podwyższonego ryzyka immunologicznego.

Ocena aloprzeciwciał wysokoczułymi testami fazy stałej została wprowadzona na świecie od początku XXI wieku. Z różnych względów, głównie finansowych, nie były wprowadzone do standardów diagnostyki przed-transplantacyjnej w Polsce. Nasze badania, przedstawione w publikacjach nr 1 oraz nr 2 stały się ostatecznym dowodem na konieczność wprowadzenia zmian w tym zakresie.

* Publikacja nr 1: Algorithm to manage highly sensitized kidney transplant recipients in Poland. Transplant. Proc.; 2011 : vol. 43, s. 2903-2907.

Cel: Weryfikacja liczby pacjentów wysokoimmunizowanych, wpisanych na Krajową Listę Oczekujących. Badanie wstępne, wykonane na niewielkiej grupie populacji, następnie rozszerzone i potwierdzone dużym badaniem, opisanym w pracy opublikowanej w Human Immunology, 2014 (publikacja nr 2 cyklu)

Zimmunizowani biorcy przeszczepu stanowią trudną grupę, wobec której na świecie stosowanych jest wiele programów przynoszących istotne dla tych biorców korzyści w postaci przeżycia przeszczepu porównywalnego z biorcami nieimmunizowanymi. Identyfikacja tej grupy chorych umożliwia podjęcie właściwej strategii przygotowania chorego do przeszczepienia i doboru najlepszego dla niego dawcy.

Zgodnie z danymi publikowanymi w Biuletynie Poltransplantu (2010 r.) w Polsce zakwalifikowani biorcy z PRA-CDC>50% stanowili ok. 3,8 %, podczas gdy w UNOS biorców takich raportowano ok. 16%. Sądziliśmy, że przyczyną niedoszacowania grupy zimmunizowanych w

Polsce jest inny rodzaj technik służących ocenie alloprzeciwciał.

W celu zweryfikowania liczby wysokozimmunizowanych potencjalnych biorców zgłoszonych do Krajowej Listy Oczekujących wykonaliśmy ocenę obecności aloprzeciwciał anty-HLA wysokoczułymi testami fazy stałej. Zbadaliśmy 55 biorców zgłoszonych do przeszczepu z wynikiem PRA-CDC $>$ 50%. Ocena immunizacji wykonana została testem przesiewowym Luminex screen wykrywającym obecność przeciwciał anty-HLA oraz testem oznaczenia swoistości - Luminex Single Antigen. Obliczono stopień immunizowania przy użyciu kalkulatora virtual PRA oraz przeanalizowano akceptowalne niezgodności HLA (HLAMatchmaker®).

Badania nasze wykazały, że wszyscy biorcy posiadali przeciwciała anty-HLA klasy I, a 94,5% klasy II. W grupie PRA-CDC 50-79% oraz $>$80% średnia wartość wynosiła 62,2% i 89,5%. U tych samych biorców wyniki virtual PRA wynosiły 95,7% oraz 97,2%. Stwierdziliśmy również, że 77% biorców posiadało przeciwciała anty-HLA-Cw, 84% anty-DQ oraz 51% anty-DP. Wśród badanych zimmunizowanych zgłoszonych do retransplantacji, tylko wobec 68% wszystkich MM stwierdziliśmy przeciwciała w badanej grupie. Dla wszystkich badanych biorców za pomocą HLAMatchmaker® możliwe było oznaczenie dodatkowych, akceptowalnych niezgodności: 152 swoistości dla locus A i 252 dla locus B.

Podsumowanie Uzyskane wyniki uprawniły nas do stwierdzenia, że ocena immunizacji chorych zakwalifikowanych do transplantacji powinna być standardowo wykonana przy użyciu wysokoczułych testów oceniających nie tylko obecność ale także swoistość alloprzeciwciał. Wiedza o swoistościach aloprzeciwciał pozwala na ustalenie bezpiecznych niezgodności z potencjalnym dawcą. Ujemny cross-match z tak określonym dawcą dla wysokozimmunizowanego umożliwia wykonanie przeszczepu z wiedzą o skali ryzyka i wskazówką co do protokołu leczenia w oparciu o monitorowanie odpowiedzi po przeszczepie. Potwierdziliśmy niską czułość testu PRA-CDC i istotne zaniżenie liczby chorych wysokozimmunizowanych oszacowanych tą metodą. Wskazaliśmy na prawdopodobieństwo wykonywania w przyszłości doboru wg akceptowalnych nieimmunogennych niezgodności przy użyciu oprogramowania HLAMatchmaker Eurotransplantu.

* Publikacja nr 2: Identification of patients with increased immunological risk among potential kidney recipients in the Polish population Hum. Immunol.; 2014 : vol. 75, nr 7, s. 650-655.

Cel: Poprawa doboru dawca /biorca do przeszczepu nerek. Określenie rzeczywistej liczby pacjentów zimmunizowanych zgłoszonych na Krajową Listę Oczekujących w Ustawowych Rejestrach Transplantacyjnych i wskazanie konieczności wprowadzenia testów fazy stałej do rutynowej diagnostyki transplantacyjnej w Polsce

Współczesne technologie z użyciem oczyszczonych rekombinowanych cząsteczek HLA w testach fazy stałej, niestety w Polsce w tym czasie rutynowo nie stosowane, w sposób znaczący poprawiły wykrywanie i możliwość charakterystyki aloprzeciwciał u pacjentów uczulonych. W celu zwrócenia uwagi na problem stosowania zbyt mało czułych, przestarzałych metod, zweryfikowaliśmy dane dotyczące liczebności grupy zwiększonego ryzyka utraty przeszczepu wśród pacjentów zgłoszonych do transplantacji nerek na Krajową Listę Oczekujących. Wykonaliśmy badania wysokoczułą metodą X-Map Luminex, umożliwiającą określenie klasy i swo-

istości aloprzeciwciał i porównaliśmy z wynikiem uzyskanym w teście PRA CDC. Pacjentom z dodatnim wynikiem testu przesiewowego Luminex screen (L-screen), zgłoszonym do retransplantacji, określiliśmy swoistości na poziomie pojedynczych antygenów przeciwciał anty-HLA (Luminex Single Antigen, L-SA), co pozwoliło sprawdzić obecność przeciwciał przeciw poprzednim niezgodnościom HLA (MM), a także wykazać postępującą immunizację u biorców kolejnych transplantacji.

Badaniem objęliśmy 1460 chorych (529 kobiet i 931 mężczyzn) zakwalifikowanych do przeszczepienia nerek i zgłoszonych do Krajowej Listy Oczekujących w Ustawowych Rejestrach Transplantacyjnych POLTRANSPLANT we wrześniu 2012 roku. Wśród badanych do pierwszej transplantacji zgłoszonych było 1225 chorych (447 kobiet i 778 mężczyzn), do retransplantacji 235 chorych (82 kobiety i 153 mężczyzn). Dla oceny stopnia zimmunizowania wykonaliśmy oznaczenie aloprzeciwciał metodą multipleksu fluorymetrii przepływowej (Luminex 200 z oprogramowaniem HLA Fusion®) w zakresie testu przesiewowego weryfikującego obecność i klasę przeciwciał anty-HLA klasy I i II oraz anty-MICA (LABScreen®Mixed, One Lambda, USA) a następnie zgodnie z wynikiem testu przesiewowego, oznaczenie swoistości przeciwciał w odpowiedniej klasie (LABScreen® Single Antigen, One Lambda, USA)

Wyniki oznaczenia PRA CDC w surowicy bieżącej (PRA ostatnie) i historycznej (PRA maksymalne) oraz dane dotyczące niezgodności (MM) z poprzednimi dawcami chorych zgłoszonych do retransplantacji pochodziły z bazy danych Krajowej Listy Oczekujących POLTRANSPLANT. Oznaczenie PRA CDC wykonywane jest w Pracowniach Zgodności Tkankowej w Regionalnych Ośrodkach Transplantacyjnych metodą, zgodnie z przyjętym standardem, z limfocytami od 30 losowych dawców. Oznaczenie wykonywane jest co 12 tygodni i wprowadzane do bazy danych Krajowej Listy Oczekujących Poltransplant. Oznaczenie aloprzeciwciał testami fazy stałej Luminex screen (L-screen) oraz Luminex single antigen (L-SA) wykonane było w próbkach surowic, które równolegle były oznaczone w testach PRA CDC i wprowadzone do bazy KLO. Do oceny stopnia immunizacji badanych chorych wykorzystano również dane dotyczące wyników maksymalnego (historycznego) PRA CDC określonego u tych samych chorych w przeszłości.

Nasza praca wykazała głębokie niedoszacowanie grupy pacjentów zimmunizowanych zgłoszonych na Krajową Listę Oczekujących. We wrześniu 2012 roku w Polsce, na Krajowej Liście Oczekujących na przeszczepienie, testem PRA CDC wykazano, że chorych immunizowanych było zaledwie 17% , chociaż historycznie (maksymalne PRA CDC) aloprzeciwciała obecne były u 35% chorych (dla porównania: badania wykonane w Wielkiej Brytanii wykazały, że w marcu 2009 roku na liście krajowej oczekujących na transplantację, było uczulonych 41% dorosłych i 58% pediatrycznych pacjentów). Przebadanie przez nas tych samych, bieżących próbek surowic wysokoczułym testem fazy stałej L-screen wykazał, że odsetek pacjentów uczulonych był znacznie wyższy i wynosił 50% dla całej grupy oczekujących, 41% dla chorych zgłoszonych do pierwszego przeszczepienia i 96% u chorych do retransplantacji. Dodatni wyniki PRA CDC występował odpowiednio u 10% chorych do pierwszego przeszczepienia i 52% do retransplantacji. W badaniach PRA CDC historycznie badana grupa chorych wykazała odpowiednio 28% do pierwszego przeszczepienia i 72% do retransplantacji. Uzyskane dane potwierdzają znacznie wyższą czułość metody L-screen i głębokie niedoszacowanie grupy podwyższonego ryzyka immunologicznego. Test L-screen pozwala już przy jednokrotnym badaniu pacjenta wykryć obecność aloprzeciwciał niewykrywanych w teście CDC – zarówno z powodu niskiego stężenia, jak i zbyt małego panelu swoistości HLA wzorcowych limfocytów. Czułość metody L-screen sprawia, że aż 39% spośród chorych do pierwszej transplantacji i 92% chorych do retransplantacji z wynikiem PRA CDC 0% miało obecne aloprzeciwciała. Z

kolei dodani wynik PRA CDC przy braku aloprzeciwciał w teście L-screen stwierdzono zaledwie u 3% chorych (41 chorych do pierwszego przeszczepienia i 1 chory do retransplantacji). Prawdopodobnie dodatni wynik PRA CDC spowodowany był obecnością przeciwciał wiążących dopełniacz, ale nieswoistych dla HLA.

Analiza wyników L-screen wykazała, że kobiety w badanej grupie były częściej immunizowane niż mężczyźni (64% vs 36%). Różnica ta nie była tak wyraźnie zaznaczona w badaniu PRA CDC (20% vs 15%) oraz w maksymalnym PRA CDC (42% vs 31%). Badanie to potwierdza uczulającą rolę ciąż oraz poronień skutkujących obecnością niskich stężeń aloprzeciwciał anty HLA, niewykrywalnych w teście cytotoksyczności zależnej od dopełniacza.

Technika L-screen umożliwia identyfikację klasy antygenów HLA wobec których potencjalny biorca wytworzył przeciwciała. Badania nasze wykazały, że pacjenci zgłoszeni do pierwszej transplantacji częściej uczuleni byli wobec HLA klasy I (35%) aniżeli klasy II (24%). Pacjenci do retransplantacji w podobnym stopniu immunizowani byli wobec obydwu klas HLA – 89% chorych miało przeciwciała przeciw kl. I i 83% przeciw klasie II. Wynik wskazuje na silnie uczulającą rolę wcześniejszych transplantacji i pokazuje jak mały odsetek chorych do ponownego przeszczepienia jest wolnych od ryzyka odrzucania zależnego od przeciwciał (AMR). Badanie testem fazy stałej pozwala przy jednokrotnym oznaczeniu ocenić obecność aloprzeciwciał anty HLA. Test PRA CDC wymaga wielokrotnego powtarzania i nadal może nie objąć wszystkich swoistości HLA, czego dowodem jest wykrycie ab anty-HLA u chorych z wynikiem 0% PRA CDC w surowicy bieżącej i historycznej.

Odpowiedź humoralna biorcy dotyczyć może nie tylko HLA dawcy, ale również całej grupy innych antygenów. Należą do nich obecne na nabłonku kanalików nerkowych antygeny MICA. Przeciwciała anty MICA należą do czynników zwiększających ryzyko odrzucania. Antygenów MICA nie ma na limfocytach, a w związku z tym przeciwciała przeciw nim skierowane są niewykrywalne w teście PRA CDC oraz w przed przeszczepowej próbie krzyżowej. Wykazano, że przeciwciała anty MICA produkowane są po przeszczepieniu, a częstość jest większa wśród biorców, którzy odrzucili przeszczep wobec tych, którzy nie mieli odrzucania. W przeprowadzonych badaniach wykazaliśmy, że 26% chorych do retransplantacji miało przeciwciała anty MICA. Również wśród zgłoszonych do pierwszego przeszczepienia, 11% chorych miało przeciwciała anty MICA. Prawdopodobnie nieswoiste pobudzenie układu immunologicznego przez krzyżowo reagujące antygeny ułatwia produkcję przeciwciał anty MICA. Chociaż częstość incydentów wczesnego humoralnego odrzucania związanego z tymi przeciwciałami jest mała, to jednak wykazano związek między obecnością przeciwciał anty MICA a ostrym humoralnym odrzucaniem i utratą przeszczepu. Związek ten szczególnie wyraźnie widać u chorych zaliczanych do grupy niskiego ryzyka, tj. biorców pierwszego przeszczepu, nieuczulonych (PRA 0%) i z dobrą zgodnością tkankową z dawcą. Z tego powodu postuluje się konieczność badania anty MICA u chorych na liście oczekujących jako dodatkowy parametr określania grupy ryzyka.

W celu uniknięcia przeszczepienia narządu od dawcy z nieakceptowanymi niezgodnościami, pacjenci z grupy zwiększonego ryzyka immunologicznego, powinni mieć przed transplantacją dokładnie określone swoistości antygenowe przeciwciał anty HLA. Metoda Luminex SA umożliwia u chorych z dodatnim wynikiem L-screen oznaczyć swoistości HLA w pełnym zakresie klasy I oraz klasy II. Badania nasze wykazały, że średnia liczba swoistości przeciwciał anty HLA wzrasta w kolejnych transplantacjach. Oznacza to, że każde kolejne przeszczepienie pacjenta jest obarczone wyższym ryzykiem immunologicznego odrzucania, ponieważ kolejna immunizacja dotyczy coraz szerszego spektrum epitopów krzyżowo reagujących z różnymi swoistościami HLA. Przedtransplantacyjna charakterystyka przeciwciał w zakresie swoistości anty HLA powinna pozwolić przewidzieć reaktywność pacjenta na dawcę z określonymi HLA. W

badaniu Luminex SA wykazaliśmy, że 56 % chorych zgłoszonych do retransplantacji ma przeciwciała anty HLA Cw, 79% anty HLA DQ i 39% anty HLA DP. Ekspresja antygenów z tych loci na limfocytach jest mała i uważa się , że antygeny te są słabo immunogenne. Znaczenie kliniczne wykrytych wysokoczułym testem przeciwciał nie jest do końca poznane, zwłaszcza, że na mikrosferach w teście SA gęstość tych antygenów jest większa niż fizjologicznie. Chociaż prawdopodobnie immunologiczne ryzyko odrzucenia przeszczepionej nerki jest niskie, utrata przeszczepu u pacjentów przy pełnej zgodności HLA A,B,DR, (0 MM) wskazuje na rolę przeciwciał anty HLA Cw, DQ i DP. Identyfikacja aloprzeciwciał, a następnie dobór dawcy w rozszerzonym układzie HLA A, B, Cw, DR, DQ, DP byłoby więc korzystne dla pacjentów wysokiego ryzyka immunologicznego.

Wprowadzenie testów dla pojedynczych antygenów (SA, Single Antigen) pozwoliło na precyzyjne określenie u chorych immunizowanych nieakceptowanych niezgodności HLA. Identyfikacja przeciwciał anty HLA umożliwia sprawdzenie obecności DSA wobec poprzedniego dawcy. Chorzy zgłoszeni do retransplantacji mają w historii choroby informację o poprzednich niezgodnościach (MM). Zgodnie z przyjętym algorytmem w przypadku gdy kolejny dawca ma powtórzoną niezgodność, chory wykluczony jest z doboru, niezależnie od przyczyny i okoliczności utraty poprzedniego przeszczepu. Badania nasze wykazały, że nie każdej niezgodności towarzyszy obecność swoistych przeciwciał wykrywalnych w teście Luminex SA. W większości przypadków, zwłaszcza MM dotyczących HLA klasy I obecne były swoiste przeciwciała anty MM HLA, ale wobec 69 MM z locus A, 96 MM locus B oraz 99 MM z locus DR nie wykryto swoistych przeciwciał. Badanie to może wskazywać na potrzebę zweryfikowania zasady bezwzględnego wykluczania z doboru do przeszczepienia biorców na podstawie informacji o powtórzonym MM z poprzednim dawcą. Problem dotyczy zwłaszcza chorych z niezgodnościami populacyjnie bardzo częstych antygenów HLA, którzy utracili nerkę szybko, np. z powodu powikłań chirurgicznych. Stwierdzenie czułym testem braku przeciwciał o tej swoistości i ujemny wynik próby krzyżowej potwierdzający brak DSA, zwiększyłby szanse takich chorych na przeszczep i dobór dla nich protokołu immunosupresji. Niektórzy chorzy z czasem tracą aloprzeciwciała, inni zachowują je w wysokim mianie i szerokim spektrum przez wiele lat. Mechanizmy regulujące naturalne obniżenie poziomu przeciwciał wciąż nie są w pełni zrozumiałe. Wykazano, że w przypadku pacjentów z funkcjonującym przeszczepem, ale wymagających transplantacji kolejnego, innego narządu (serce-nerka, nerka-trzustka) poprzednie niezgodne antygeny nie powinny być wymienione jako nieakceptowane, za wyjątkiem tych, wobec których wykazano obecność przeciwciał.

Podsumowanie Dla poprawy wyników przeszczepiania nerek, kliniczne programy rozwoju transplantacji powinny być równolegle wspierane przez laboratoryjny program badań. Wykazaliśmy, że przyjęta i refundowana w Polsce metoda PRA CDC jako jedyny test do oceny pacjentów podwyższonego ryzyka immunologicznego jest, w świetle współczesnych technologii, dalece niewystarczająca. Testy fazy stałej umożliwiają zwiększenie czułości wykrywania niskich stężeń przeciwciał anty HLA i tym samym lepszą ocenę przynależności pacjenta do grupy podwyższonego ryzyka immunologicznego. Ocena kwartalna wszystkich chorych zgłoszonych do przeszczepienia pozwoliłaby uzyskać dokładną informację o statusie biorcy i wskazała chorych, którym należy określić swoistość przeciwciał anty HLA. W grupie pacjentów wysokozimmunizowanych określenie stężenia i swoistości przeciwciał anty HLA pozwoliłoby monitorować ich usuwanie przy odczulaniu i wskazać odpowiedni moment na dokonanie transplantacji, a ustalenie akceptowalnych antygenów HLA poprzez określenie prawdopodobieństwa wytworzenia przeciwciał na podstawie liczby niezgodnych immunogennych miejsc pomogłoby

w przyszłości wybrać dawcę optymalnego.

Następstwem pracy było:

* wprowadzenie we wszystkich Pracowniach Zgodności Tkankowej przy Regionalnych Ośrodkach Transplantacyjnych w Polsce nowych technik badawczych z wykorzystaniem testów fazy stałej. Finansowanie rutynowych badań odbywa się w ramach realizacji programu wieloletniego Narodowego Programu Rozwoju Medycyny Transplantacyjnej, zadania dotyczącego rozwoju przeszczepiania w grupach biorców o podwyższonym ryzyku immunologicznym w celu poprawy wyników leczenia transplantacyjnego

* wprowadzenie do systemu informatycznego bazy danych w Ustawowych Rejestrach Transplantacyjnych nowych zakładek z danymi o obecności i swoistości przeciwciał anty-HLA pacjentów oczekujących na transplantację

* wprowadzenie do krajowego algorytmu alokacji narządu wirtualnego cross-match (vXM) jako pierwszego etapu doboru dawca – biorca nerki

Powyższe zmiany zostały uwzględnione w opracowaniu z moim współautorstwem: „Zalecenia dotyczące leczenia immunosupresyjnego po przeszczepieniu narządów unaczynionych" w rozdziale „Ocena ryzyka immunologicznego u biorców nerek oparciu o dostępne w Rejestrach Ustawowych wyniki badań obecności alloprzeciwciał"; Polskie Towarzystwo Transplantacyjne pod redakcją Magdaleny Durlik i Krzysztofa Zieniewicza, Warszawa, grudzień 2016, st r.27-34

Zapotrzebowanie na transplantacje nerek zapoczątkowało w połowie XX wieku intensywny rozwój diagnostyki immunologicznej i immunogenetycznej w celu zapewnienia lepszego doboru pary dawca/biorca i tym samym zwiększenia szansy na powodzenie zabiegu. Niezbędnym etapem doboru dawca/biorca do przeszczepienia nerki jest wykonanie próby krzyżowej (cross-match) surowicy biorcy z limfocytami dawcy. W roku 1969 Patel i Terasaki opublikowali fundamentalną pracę, w której wykazali, że przyczyną nadostrego odrzucania graftu są wykrywane w badaniu cytotoksyczności zależnej od dopełniacza XM CDC (cross-match Complement Dependent Cytotoxicity) obecne w surowicy biorcy przeciwciała anty-HLA wobec dawcy (DSA - Donor Specific Antibodies). Udowodniono, że przy pozytywnym XM CDC w 80% wykonanych transplantacji następowała utrata graftu. Przyjęto więc, obowiązującą do dziś zasadę, że dodatni wynik XM CDC z całą pulą lub limfocytami T dyskwalifikuje chorego do przeszczepu. Negatywny crossmatch z limfocytami T i pozytywny z limfocytami B nie jest bezwzględnym przeciwwskazaniem do transplantacji. Nadal jednak istnieje ryzyko nadostrego odrzucania z powodu obecności przeciwciał anty-HLA kl. II, a także zwiększone ryzyko odrzucania przyspieszonego ostrego i ostrego, w związku z obecnością niskich stężeń przeciwciał skierowanych przeciw HLA kl. I. W celu zwiększenia czułości badania zaproponowano wiele wariantów testu XM CDC m.in. wydłużenie czasów inkubacji, wzmocnienie reakcji anty-ludzką globuliną (AHG – Anti-Human Globulin), dodatkowe płukania. Wprowadzono nowe metody z użyciem cytometru przepływowego (FCXM, Flow Cytometry Cross-Match) wykrywającego przeciwciała anty HLA w kl. I i II oraz zmodyfikowaną metodę cFCXM (cytolytic FCXM) wykrywającą lityczne aloprzeciwciała. Identyfikacja swoistości przeciwciał anty-HLA testami fazy stałej (Luminex Single Antigen) pozwoliła na wprowadzenie wirtualnej próby krzyżowej (vXM, virtual Cross-Match).

Rozbieżne wyniki badań ocenianych różnymi testami wpływają znacząco na ostateczna decyzję klinicysty o przeszczepieniu lub o rezygnacji. Może to również oznaczać niesłuszne zabranie szansy choremu na transplantację. Dotyczy to zwłaszcza sytuacji mniej oczywistych np. pacjentów słabo immunizowanych, do pierwszego przeszczepienia.

W kolejnych dwóch publikacjach cyklu (nr 3 oraz nr 4) zajęłam się problemem badań laboratoryjnych poprawiających możliwość szacowania ryzyka wystąpienia AMR u biorców nerek.

* **Publikacja nr 3: Evaluation of pretransplant donor-specific alloantibodies with different crossmatch techniques Transplant. Proc.; 2018 : vol. 50, nr 6, s. 1625-1630.**

Cel: Porównanie różnych technik przed-trasplantacyjnego cross-match: XM-CDC, FCXM, cFCXM w celu sprawdzenie ich przydatności dla prawidłowego dopasowania immunologicznego do transplantacji nerki oraz weryfikacja poziomu cut-off MFI przeciwciał anty-HLA swoistych dla dawcy (DSA) stosowanego w wirtualnej próbie krzyżowej (vXM)

Metody umożliwiające wykonanie przed-transplantacyjnej próby krzyżowej różnią się czułością i swoistością. XM-CDC wykrywa jedynie aloprzeciwciała wiążące dopełniacz, natomiast FCXM i vXM wykrywa wszystkie aloprzeciwciała swoiste dla dawcy. Niestety może to skutkować odmiennymi wynikami testów, prowadzić do rozbieżnej interpretacji danych i ostatecznie wpływać na podjęcie decyzji o alokacji nerek. Skłoniło to nas do wykonania badań różnymi technikami : v-XM, XM-CDC, FCXM oraz cFCXM w celu ich porównania i sprawdzenia

czy nowo opracowane techniki mogą być korzystne dla immunologicznego dopasowania przeszczepu. Celem badania była również weryfikacja poziomów MFI aloprzeciwciał swoistych dla dawcy (cut-off), które są stosowane w wirtualnej próbie krzyżowej.

Zaprojektowaliśmy wirtualny immunologiczny dobór zmarłych dawców z „hipotetycznymi biorcami". Dla każdego dawcy wybraliśmy minimum 3 „biorców". Każdy „biorca" miał przynajmniej 1 przeciwciało swoiste dla dawcy (DSA, Donor Specific Antibody)) na minimalnym poziomie 5000 MFI (mean fluorescence intensity), co zgodnie z przyjętym algorytmem oznaczało pozytywny vXM. Dla każdej pary dawca/biorca wykonano próbę krzyżową trzema metodami: XM-CDC, FCXM oraz cFCXM. Limfocyty uzyskiwane były z węzłów chłonnych zmarłych dawców. Do testu XM-CDC użyliśmy całej puli limfocytów oraz wzbogaconą immunomagnetycznie pulę limfocytów B. FCXM wykonaliśmy z pełną pulą limfocytów. Oznaczenie HLA -A*, -B* i –DRB1*, dawcy było na poziomie niskiej rozdzielczości. Status zimmunizowania biorców zbadaliśmy testami fazy stałej Luminex SA (bez uwzględnienia efektu prozonalnego). Następnie dobraliśmy surowice do dawców tak, by obecne było co najmniej 1 przeciwciało swoiste dla dawcy (DSA) na minimalnym poziomie 5000 MFI. Pominęliśmy pacjentów z autoprzeciwciałami.

W badaniu, wszystkie dodatnie wyniki XM-CDC były równocześnie dodatnie w FCXM, ale nie wszystkie dodatnie FCXM były pozytywne w XM-CDC. Co ważne, przypadki pozytywne w obydwu testach miały wyższe wartości MFI DSA w porównaniu z XM-CDC ujemnym/FCXM dodatnim, chociaż dokładnej wartości cut-off nie zidentyfikowano. Dodatkowo zastosowaliśmy metodę cFCXM, w której możliwe jest oszacowanie żywotności komórek uszkodzonych przez aloprzeciwciała wiążące dopełniacz. Niestety, nie wszystkim dodatnim wynikom XM-CDC towarzyszył dodatni cFCXM, 3 spośród 22 wyników (14%) było XM-CDC dodatnich a cFCXM ujemnych. Dla tych 3 przypadków uznaliśmy, że były fałszywie ujemne, jako że DSA były obecne i test CDC był dodatni. Co ciekawe pozostałe wyniki XM-CDC i cFCXM w naszym badaniu korelowały ze sobą. W badaniach obserwowaliśmy, że silniejszej reakcji CDC towarzyszył wyższy odsetek martwych komórek, zarówno CD3 jak i CD19 mierzonych cytometrem przepływowym.

W rutynowych badaniach vXM służy do startyfikacji ryzyka związanego z obecnością aloprzeciwciał i może przewidywać ujemny wynik XM-CDC u nieimmunizowanych biorców nerki. W naszym badaniu stwierdziliśmy, że DSA o wartości $>$7000 MFI przewidywał dodatni XM-CDC z akceptowalną, na podstawie analizy ROC, czułością i swoistością. Należy jednak zaznaczyć, ze niekompletna informacja o HLA dawcy (rutynowo typowane jest tylko HLA-A,B,DR) mogła wpłynąć na wyniki. Należy także zauważyć, że wartość cut-off dla DSA musi być dla immunizowanych pacjentów bardzo uważnie rozważone, zwłaszcza, że tylko 9 z 22 przypadków było dodatnich w XM-CDC przy zastosowaniu wartości cut-off 5000 MFI dla DSA, zgodnie z polskim krajowym systemem alokacji.

Podsumowanie Przeprowadzone badania wykazały, że immunologiczny dobór dawca/biorca do przeszczepu nerek wymaga różnych metod weryfikujących znaczenie wykrytych aloprzeciwciał. Wciąż istnieje potrzeba opracowania i wprowadzania nowych metod usprawniających badania laboratoryjne. Przykładem jest cFCXM, który może rozstrzygać rozbieżności między XM-CDC i FCXM. Dobra identyfikacja klinicznie ważnych aloprzeciwciał jest szczególnie ważna dla pacjentów immunizowanych dużą liczbą swoistości HLA. vXM używany jako wstępny filtr przy doborze od zmarłego dawcy powinien utrzymać w równowadze prawdopodobieństwo pomyślnej transplantacji i ryzyko dodatniego wyniku przed-przeszczepowej biologicznej próby krzyżowej.

* **Publikacja nr 4: The utility of cytolytic flow cytometry crossmatch before kidney transplantation Transpl. Immunol.; 2021: vol. 68, art. ID 101426, s. 1-5.**

Cel: Ocena przydatności testu cFCXM weryfikującego kliniczne znaczenie przed-transplantacyjnych dodatnich wyników FCXM w pięcioletniej obserwacji incydentów ostrego odrzucania.

Serologiczna próba krzyżowa (XM-CDC, Crossmatch – Complement Dependent Cytotoxicity) jest mniej czuła niż FCXM (Flow Cytometry Crossmatch) i może przewidzieć jedynie wczesną odpowiedź In vivo, ponieważ wykrywa wysokie miana przeciwciał wiążących dopełniacz, wystarczające do wywołania nadostrego odrzucania. FCXM wykrywa znacznie niższe stężenia aloprzeciwciał, a pozytywny wynik uzyskiwany jest u ok. 13% biorców przeszczepionych z ujemnym wynikiem XM-CDC. Ujemny wynik FCXM zmniejsza ryzyko wczesnego, zależnego od przeciwciał odrzucania, ale odbywa się to kosztem wyników fałszywie dodatnich (np. obecność nielitycznych podklas IgG2/IgG4 lub fałszywie dodatnie tło limfocytów B). Badania wykazały, że uzyskane wyniki FCXM mogą niesłusznie wykluczyć z transplantacji blisko 30% pacjentów, u których w pierwszym roku po transplantacji nie stwierdzono odrzucania zależnego od przeciwciał. Jedną z wad FCXM jest brak oceny klinicznego znaczenia aloprzeciwciał (lityczne/nielityczne) oraz wysoki sygnał tła dla komórek B. Stwierdzono, że aż połowa wyników FCXM B(+)/ T(-) może być związana z obecnością powierzchniowych receptorów immunoglobulin (FcR) na limfocytach B. Z drugiej strony wynik FCXM B(+) może częściowo przewidywać pojawienie się ostrego odrzucania. Podejmowano próby zwiększenia swoistości FCXM poprzez blokowanie FcR pronazą, poprzez trawienie enzymatyczne, ale takie działanie może uszkadzać antygeny powierzchniowe, prowadząc do ekspozycji ukrytych determinant HLA i dawać fałszywie dodatnie wyniki FCXM.

W poszukiwaniu lepszej, być może rozstrzygającej metody, opracowaliśmy w oparciu o doświadczenia innych badaczy, technikę cytolitycznej próby krzyżowej z użyciem cytometru przepływowego cFCXM (cytolytic Flow Cytometry Crossmatch), która zapewnia wysoką czułość wykrywania klinicznie ważnych aloprzeciwciał wiążących dopełniacz. Test cFCXM za pomocą barwnika żywotności 7-AAD wykrywa martwe komórki, co świadczy o obecności swoistych litycznych aloprzeciwciał. Celem naszego badania była ocena klinicznej użyteczności cFCXM. Założyliśmy, że cFCXM rozróżni pacjentów CDC (-)/FCXM(+) na grupy cFCXM ujemni i cFCXM dodatni. Ponadto test cFCXM powinien wykrywać przeciwciała cytotoksyczne u słabo immunizowanych pacjentów, co mogłoby być pomocne w ocenie ryzyka immunologicznego w tej grupie biorców nerki.

Przebadaliśmy retrospektywnie 135 biorców nerki od dawców zmarłych. Transplantacje wykonane były w latach 2011-2013 w Ośrodku Transplantacyjnym Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Gdańsku. Dobór dawca/biorca do przeszczepu wykonano metodami XM-CDC, FCXM oraz cFCXM. Do obserwacji klinicznej wybrano biorców wg kryteriów takich jak wiek, płeć, cechy kliniczne, status immunizacji oraz niezgodności HLA przed transplantacją. Głównym kryterium wyboru była niska immunizacja potwierdzona w przed-transplantacyjnym badaniu jako maksymalne historyczne PRA CDC równe lub poniżej 10%. Wykluczeni zostali pacjenci wymagający odczulania lub biologicznego leczenia anty-B limfocytom. Innym wyklu-

czającym kryterium był przeszczep wielonarządowy oraz przeszczep od dawcy żywego. Pacjenci byli obserwowani do 5 lat po przeszczepieniu pod kątem odrzucania graftu i zostało to skorelowane z immunologicznym statusem dawca/biorca.

W badaniu oceniliśmy przydatność testu cFCXM jako wskaźnika aloimmunizacji pacjentów z przeszczepioną nerką. Wyniki zostały zestawione z klinicznymi danymi w 5-letniej obserwacji. Jest to, według naszej wiedzy, pierwsze badanie oceniające jak ten zmodyfikowany test może ułatwić decyzję o doborze dawca/biorca dla słabo zimmunizowanych pacjentów oczekujących na przeszczepienie nerki.

Najważniejszą obserwacją naszego badania jest fakt, że cFCXM może ocenić znaczenie kliniczne dodatnich wyników FCXM. Pięcioletnia obserwacja incydentów ostrego odrzucania wykazała, że cFCXM może zweryfikować znaczenie kliniczne dodatnich wyników FCXM, ponieważ biorcy z dodatnim FCXM, ale ujemnym CDC-XM mieli takie samo ryzyko odrzucenia jak pacjenci z obydwoma ujemnymi wynikami CDC-XM/FCXM. Uzyskane przez nas wyniki sugerują, że test cFCXM może zapewnić bardziej precyzyjną ocenę ryzyka immunologicznego u biorców przeszczepu nerki. Sądzimy, że cFCXM może być używany jako test rozstrzygający w przypadkach, gdy FCXM jest niespodziewanie pozytywny. Ma to szczególne znaczenie w przypadku biorców słabo zimmunizowanych, z niskimi mianami alloprzeciwciał (ujemna wirtualna próba krzyżowa), ale dodatnimi w FCXM. Biorąc pod uwagę ścisłe zasady dopuszczenia do przeszczepu, biorcy ci mają zmniejszone szanse na przeszczepienie nerki. Dlatego niezbędny jest kolejny, poza XM-CDC i FCXM, test laboratoryjny umożliwiający weryfikację alloprzeciwciał. Wykazaliśmy, że pacjenci po przeszczepieniu z ujemnym XM-CDC i dodatnim FCXM nie mieli wyższego ryzyka odrzucenia narządu w krótkim (30 dni) lub wydłużonym do pięciu lat okresie obserwacji po transplantacji. U słabo zimmunizowanych pacjentów, z ujemnym vXM, dodatnim FCXM i ujemny XM-CDC ryzyko odrzucania nerki wynosi tylko 0.32. Jest to ważna obserwacja, którą można by wykorzystać w postępowaniu diagnostycznym pozwalającym rozszerzenie puli biorców dla zgłoszonego dawcy. Obecnie szacowanie zdolności wiązania dopełniacza wykonywane jest w oparciu o rutynową metodę CDC oraz dodatkowo Luminex C1q. Jednak obie metody mają swoje ograniczenia. Wiemy, również w oparciu o badania własne, że XM-CDC odzwierciedla tylko wysokie stężenia przeciwciał o wartości, mierzonej metodą Luminex Single Antigen, równej lub wyższej niż 7000 MFI. Jest to oczywista wada, ponieważ niskie stężenia przeciwciał są również ważne do stratyfikacji ryzyka. Z kolei test fazy stałej C1q, przy wysokich stężeniach aloprzeciwciał jest podatny na wyniki fałszywie dodatnie. Kolejną ważną obserwacją w naszym badaniu było stwierdzenie, że cFCXM może rozstrzygnąć tylko przypadki B(+) FCXM. Powszechnie uważa się, że dodatni FCXM z komórkami B jest raczej artefaktem laboratoryjnym wynikającym z ekspresji FcR, a zatem ryzyko odrzucenia narządu jest ograniczone. Jednak limfocyty B mają silną ekspresję cząsteczek HLA klasy II, ważny antygen immunizujący. W przeprowadzonym przez nas badaniu każdy dodatni FCXM był dodatni dla komórek B, a późniejsza ocena z cFCXM nie wykazała, żeby wiązanie przeciwciała anty-HLA z powierzchnią komórki B powodowało zmniejszoną żywotność. Dlatego wydaje się, że kolejną zaletą cFCXM jest zmniejszona potrzeba trawienia enzymatycznego komórek B.

Niestety badanie miało kilka ograniczeń. Uzyskaliśmy aż 20% dodatnich wyników FCXM z komórkami B, przy równoczesnym ujemnym wyniku XM-CDC z limfocytami B. Częściowo można to wyjaśnić zbyt małą czułością metody XM-CDC lub niewłaściwie dobraną wartością odcięcia sygnału MFI. Mała liczba pozytywnych FCXM pomimo stosunkowo dużej liczby zrekrutowanych osób (n=135) była być może spowodowana ustalonymi kryteriami vXM, które skutecznie wyeliminowały potencjalnych biorców, którzy byliby w FCXM dodatni. Ostatecznie

niewielka liczba pacjentów zimmunizowanych nie pozwoliła na wykonanie dobrej statystycznej analizy pozwalającej na interpretację różnic pomiędzy wynikami FCXM B dodatnimi i T/B dodatnimi.

Podsumowanie Uważamy, że cFCXM może być przydatną metodą doboru immunologicznego dla biorców nisko zimmunizowanych, gdy stosowane dotychczas metody XM-CDC / FCXM nie dają jednoznacznego wyniku. Nasza 5-letnia obserwacja klinicznych losów pacjentów pozwala pozytywnie ocenić wprowadzenie testu do przed-przeszczepowej rutyny laboratoryjnej. Przed wprowadzeniem do rutynowej diagnostyki transplantacyjnej konieczna będzie standaryzacja metody cFCXM, a także rozszerzenie grup badanych. Interesujące byłoby sprawdzenie korzyści z zastosowania testu cFCXM dla pacjentów wysoko zimmunizowanych przy doborze narządu od dawcy żywego.

Dynamiczny postęp wiedzy i możliwości technologicznych sprawia, że standardy oceny immunizacji biorcy nerki wymagają ciągłych zmian. Brak jednolitego na świecie sposobu określania nieakceptowalnych niezgodności (UAMs, unacceptable antigen mismatches) dla zimmunizowanego biorcy nerki sprawia, że istnieje wiele algorytmów doboru dawca/ biorca do przeszczepu. Na podstawie doświadczenia różnych ośrodków przeszczepiających, a także wytycznych wykrywania i charakteryzowania klinicznie ważnych dla alotransplantacji przeciwciał, przedstawiliśmy naszą propozycję zmian w dotychczasowym algorytmie diagnostycznej oceny immunizacji potencjalnego biorcy nerki z listy KLO (publikacja nr 5). Zmiany dotyczą rozszerzenia zakresu badań w układzie HLA (dodatkowe loci), wykrywania i charakteryzowania aloprzeciwciał na etapie aktywacji chorego na liście oczekujących, śledzenia zmian przed przeszczepieniem i na etapie odczulania oraz monitorowania po wykonanej transplantacji. Powodzenie nowego algorytmu opartego o rozszerzone badania diagnostyczne wymaga nowego systemu informatycznego w Ustawowych Rejestrach Transplantacyjnych. Elektroniczny transfer rozszerzonych danych immunologicznych o pacjencie i ich przetwarzenie na etapie doboru do przeszczepienia pozwoli na dokładną analizę wyników badań laboratoryjnych i podjęcie właściwej decyzji klinicznej.

* **Publikacja nr 5: Immune algorithm optimization for organ transplantation in Poland Transplant. Proc.; 2020: vol. 52, nr 7, s. 2026-2032.**

Cel: Opracowanie propozycji zmian w krajowym algorytmie oceny immunizacji potencjalnego biorcy nerki z listy KLO w celu stratyfikacji grup ryzyka immunologicznego odrzucania i szacowania indywidualnego ryzyka pacjenta

Przed-transplantacyjna identyfikacja przeciwciał anty-HLA jest kluczowa dla właściwego doboru dawca/biorca w celu uniknięcia nie tylko odrzucania nadostrego, ale także zależnego od przeciwciał odrzucania ostrego oraz lepszego przeżycia graftu w dłuższej perspektywie czasowej. Wykrywanie i identyfikacja aloprzeciwciał oraz określenie ich klinicznego znaczenia wymaga zastosowania wielu metod badawczych, a prawidłowa ocena wyników badań możliwa jest na podstawie wiedzy o przyczynie ich wytworzenia. Medyczne laboratorium diagnostyczne musi stosować metody umożliwiające ilościowe i jakościowe wykrywanie przeciwciał anty-HLA, rozróżnienie klas IgG od IgM oraz stosować techniki umożliwiające ocenę wyników fałszywie dodatnich i ujemnych. Laboratorium na bieżąco powinno wprowadzać nowe technologie, a do badań powinna być użyta kombinacja różnych testów, w tym przynajmniej jeden test fazy stałej. Do właściwej interpretacji uzyskanych wyników niezbędna jest współpraca klinicysty z diagnostą laboratoryjnym.

W Polsce dobór dawca/biorca nerki odbywa się w systemie Ustawowych Rejestrów Transplantacyjnych. Przeważająca większość (ok. 97%) narządów do przeszczepu pochodzi od dawców zmarłych, rocznie jest ich ok. 500. Zgodnie z danymi z 2019 r. średnio rocznie przeszczepianych jest ok. 900 chorych, przy zgłoszonych ok. 1200 potencjalnych biorcach. Wszyscy potencjalni biorcy muszą być wpisani na Krajową Listę Oczekujących w Ustawowych Rejestrach Transplantacyjnych. Po zgłoszeniu dawcy w regionalnym ośrodku transplantacyjnym wybór najlepszego biorcy odbywa się wobec wszystkich chorych z krajowej listy, zgodnie z przyjętymi zasadami alokacji. Dobór immunologiczny jest nieodłączną częścią procedury. Odbywa się w lokalnym (dla miejsca zgłoszenia dawcy) laboratorium medycznym posiadającym, zgodnie z ustawą, pozwolenie Ministra Zdrowia na wykonywanie badań z zakresu diagnostyki trans-

plantologicznej. Krajowy system alokacji narządu wymaga pełnej harmonizacji postępowania diagnostycznego. Obecnie badanie układu HLA dawcy i biorcy wykonywany jest w zakresie loci - A,-B, -DRB1, na poziomie niskiej rozdzielczości. Status immunizacji pacjenta badany jest raz na kwartał w teście PRA-CDC wobec puli limfocytów od 30 losowych, niespokrewnionych osób, oraz testami fazy stałej (SPA, Solid Phase Assay) wykrywającymi obecność przeciwciał anty-HLA (Luminex screen) oraz ich swoistość (Luminex SA, Single Antigen). Pierwsza selekcja potencjalnych biorców opiera się o wirtualny cross-match (vXM) przy stwierdzonych DSA o wartości >5000 MFI dla pojedynczej swoistości przeciwciał anty-HLA. Biorcy z ujemnym vXM zakwalifikowani zostają do biologicznej próby krzyżowej (XM-CDC). Ujemny wynik wskazuje na możliwość wykonania transplantacji. Pomimo liberalnych założeń granicznej wartości MFI, wykluczenie pacjentów wysokiego ryzyka przez vXM znacząco zwiększyło liczbę biorców z mała szansą na transplantację i wykazało potrzebę zmian dotychczasowych standardów. Kierując się wytycznymi światowymi zaproponowaliśmy wprowadzenie nowych badań pozwalających oszacowanie ryzyka immunologicznego odrzucania u potencjalnych biorców, a w konsekwencji warunkujących poprawę powodzenia przeszczepu.

Zakres typowania HLA

W nowym zakresie badań zaproponowaliśmy rozszerzenie typowania antygenów HLA o dodatkowe loci -C, -DQB1/A1, -DPB1/A1, co pozwoli na właściwą interpretację obecności przeciwciał anty-HLA wobec zgłoszonego dawcy (DSA). Dzięki typowaniu dawcy metodą real time PCR w pośredniej rozdzielczości (tzw. SARB „single antigen resolution beads"), możliwe będzie po-przeszczepowe monitorowanie uwzględniające ocenę „epitope antibody analysis" i dokładną weryfikację, czy de novo przeciwciała anty-HLA są wynikiem immunizacji antygenami przeszczepu. W dalszej perspektywie, przy upowszechnianiu technik sekwencjonowania (NGS: New Generation Sequencing), wprowadzenie typowania na poziomie wysokiej rozdzielczości pozwoli zastosować algorytm doboru opartego o analizę zgodności epitopów HLA-matchmaker (http://www.epitopes.net), a w konsekwencji przy alokacji, rezygnację z punktów przyznawanych za brak niezgodnych HLA na korzyść doboru uwzględniającego liczbę niezgodnych epletów (mismatch eplets, mmEp), znacznie lepiej opisującego potencjalną aloreaktywność biorcy na przeszczep.

Aktywacja pacjenta na liście oczekujących (nadanie statusu „aktywny")

Obecnie nadanie pacjentowi statusu „aktywny" na liście KLO następuje po wykonaniu oznaczenia HLA i wprowadzeniu wyników PRA CDC z jednego pobrania. Dla uniknięcia pomyłek, dla bezpieczeństwa pacjenta, proponujemy żeby aktywacja następowała dopiero po dwukrotnym oznaczeniu PRA CDC wraz z badaniem Luminex screen z 2 różnych próbek krwi, a przy wpisywaniu biorcy na listę badanie HLA powinno być również powtórzone. Surowice potencjalnego biorcy nerki powinny być regularnie badane testem przesiewowym nie rzadziej niż co 6 miesięcy. Brak badań aktualnych dyskwalifikuje czasowo do przeszczepu. Dwa tygodnie po incydencie immunizującym pacjenta surowica powinna być ponownie zbadana.

Przeciwciała anty HLA w surowicy potencjalnego biorcy

Obecność w surowicy biorcy przeciwciał anty-HLA klasy I i/lub II wiąże się z gorszym wynikiem po przeszczepieniu nerki. Zaproponowaliśmy kilka zmian w schemacie badań oznaczania przeciwciał anty-HLA, pozwalających na lepsze monitorowanie potencjalnych biorców przed transplantacją. Nie każde przeciwciało wykryte w testach fazy stałej niesie za sobą to samo ryzyko kliniczne. Metaanalizy z ostatnich lat wskazują wyraźnie na znaczenie DSA, a zwłaszcza wiążących dopełniacz, dla pojawienia się odrzucania zależnego od przeciwciał oraz czasu przeżycia graftu w dłuższym, bo 8-10 letnim przedziale czasowym. Zgodnie z proponowanym algorytmem status pacjentów w zakresie obecności aloprzeciwciał byłby badany testami PRA CDC i Luminex screen kwartalnie, natomiast identyfikacja swoistości anty-HLA (L-SA, Luminex Single Antigen) zmniejszona zostałaby z kwartalnych do półrocznych badań, ale z dołączeniem badania identyfikującego aloprzeciwciała wiążące dopełniacz wykrywane testem Luminex C1q. Do właściwej oceny wykrytych aloprzeciwcial zaproponowaliśmy dodatkowo badania weryfikujące obecność przeciwciał klasy IgM oraz identyfikację fałszywie dodatnich przeciwciał przeciw zdenaturowanym epitopom (anty-dHLA). Ważne zmiany w identyfikacji aloprzeciwciał będą obejmowały przy badaniu L-screen oraz L-SA postępowanie w celu wykluczenie efektu prozonalnego, mogącego mieć wpływ na fałszywie ujemne wyniki.

Wprowadzenie badania oceniającego liczność wykrywanych swoistości anty-HLA metodą Luminex (L-SA C1q+) będzie najbardziej istotną zmianą w algorytmie oceny immunizacji. Plany wdrożenia badania L-SA C1q przed transplantacją warunkowane są narastającą liczbą zimmunizowanych biorców wykluczonych z możliwości transplantacji z uwagi na cut off MFI dla DSA >5000 przy jednoczesnym braku programów odczulania. Mając na uwadze wysoką wartość predykcyjną dla AMR przy obecnych DSA C1q+ zdecydowano o wdrożeniu badania zachowując asekurację w postaci zalecenia monitorowania biorców DSA+ C1q-. Proponujemy, żeby badanie L-SAB C1q wykonywane było początkowo u wszystkich zimmunizowanych biorców z wcześniej wykrytymi przeciwciałami IgG anty-HLA (Luminex SAB) celem ustalenia w krajowej populacji bezpiecznego poziomu odcięcia MFI.

W nowym algorytmie krajowym planowana jest weryfikacja przeciwciał IgM, których obecność nie ma szkodliwego klinicznego wpływu na transplantację, o ile nie jest wynikiem immunizacji w ciągu ostatnich 3 tygodni, przed konwersją do IgG. IgM wpływa na wynik próby krzyżowej biologicznej XM-CDC oraz PRA-CDC. W celu potwierdzenia IgM, biorca kwalifikowany byłby do próby krzyżowej autologicznej, celem wykluczenia autoprzeciwciał klasy IgM. U biorców z obecnymi aloprzeciwciałami IgM wskazujemy na konieczność wykonania dodatkowo biologicznej próby krzyżowej CDC z DTT (ditiotreitol). Wynik XM-CDC IgG (-) /IgM (+) nie byłby przeciwwskazaniem do przeszczepienia.

Określenie nieakceptowalnych niezgodności (UAMs, unacceptable antigen mismatch) z dawcą na podstawie wykrytych w surowicy biorcy przeciwciał anty-HLA

Kluczowe dla dalszych losów potencjalnego biorcy jest określenie nieakceptowalnych niezgodności z dawcą. Zbyt duża liczba UAMs zmniejsza szansę biorcy na zalezienie odpowiedniego dawcy i znacząco wydłuża czas dializoterapii, zwłaszcza w przypadku chorych silnie immunizowanych. Nieprawidłowo wykryta mała liczba UAMs naraża chorego na zły dobór, zwiększa ryzyko odrzucania zależnego od przeciwciał i skraca czas przeżycia graftu. Badanie L-SAB C1q stanowi filar nowego programu oceny ryzyka i ustalenia nieakceptowalnych niezgodności HLA (UAMs). Tylko przeciwciała anty-HLA C1q(+) wyznaczałyby nieakceptowalne niezgodności

HLA (UAMs). W proponowanym algorytmie badań wykryte, na etapie cyklicznych badań, swoistości przeciwciał anty-HLA oraz anty-HLA C1q(+) będą wpisane do indywidualnych plików biorców w bazie danych Ustawowych Rejestrów Transplantacyjnych. Na podstawie tych danych, po zgłoszeniu dawcy możliwe będzie określenie UAMs, będących podstawą do vXM i wykluczenie biorcy z biologicznego cross-match CDC, gdy takie nieakceptowane niezgodności będą stwierdzone. Takie postępowanie umożliwi określenie czy potencjalny biorca ma swoiste DSA i czy są one przeciwwskazaniem do transplantacji (aloprzeciwciała wiążące dopełniacz, C1q+) czy tylko czynnikiem podwyższonego ryzyka immunologicznego odrzucania (aloprzeciwciała niewiążące dopełniacza, C1q-).

Wirtualne PRA (vPRA) – rzeczywista ocena szansy na przeszczepienie pacjenta immunizowanego

Wykryte UAMs byłyby podstawą dla prawidłowej oceny stopnia immunizacji potencjalnego biorcy poprzez zastosowanie kalkulatora, opracowanego przez Eurotransplant, porównującego szanse na znalezienie dawcy w zbadanej i wprowadzanej do bazy danych ok. 8 tysięcy osób z populacji kaukaskiej. Kalkulacja vPRA wykonywana będzie w oparciu o wykryte przeciwciała IgG anty-HLA (C1q+). Na podstawie wyniku vPRA możliwe będzie wskazanie potencjalnych biorców z najmniejszą szansą na przeszczep (vPRA>85%) i rozszerzenie wobec nich diagnostyki. Identyfikacja w klasie IgM z rozróżnieniem przeciwciał auto- (wykonanie autologicznej próby krzyżowej) i allo- (test PRA CDC z DTT), a także weryfikacja obecności przeciwciał przeciwko zdenaturowanym epitopom (anty-dHLA) pozwoliłoby na korekcję UAMs i zwiększenie szansy na przeszczep. Grupą wymagającą dodatkowej weryfikacji w zakresie obecności przeciwciał klasy IgM są także chorzy ujemni lub słabo dodatni w testach Luminex screen (przeciwciała klasy IgG), ale w sposób powtarzalny odrzucani z listy kandydatów do przeszczepienia z powodu dodatnich biologicznych prób krzyżowych CDC.

Obecnie przy alokacji dodatkowe punkty za ryzyko immunologiczne otrzymuje pacjent w oparciu o niedoskonały test PRA CDC. Przy ujemnej próbie krzyżowej CDC i PRA CDC >80% transplantacja jest obligatoryjna, przy wartościach PRA CDC 50-79%, pacjent otrzymuje dodatkowo 7 punktów. W proponowanych algorytmie dodatkowe punkty przy alokacji oparte byłyby o wartości vPRA , tj. przy wartości vPRA > 85% i ujemnej próbie krzyżowej - przeszczep obligatoryjny, przy vPRA 50-84% dodatkowe punkty.

Wirtualny cross-match (vXM) – jako wyznacznik prawdopodobieństwa wystąpienia dodatniej biologicznej próby krzyżowej i pierwsza selekcja pacjentów w procesie doboru dawca/biorca

Obecnie stosowany vXM na etapie doboru dawca – biorca oparty jest o wartość MFI przeciwciał anty-HLA wobec dawcy (DSA) wykrytych testem Luminex-SAB. Dla kategoryzacji ryzyka immunologicznego odrzucania przyjęto następujące wartości cut-off MFI:

* < 2000 MFI (vXM negatywny). Minimalne ryzyko HR, związane z niskim stężeniem DSA, ale wyższe iż w standardowym ryzyku. Wykonanie decydującego o transplantacji CM-CDC

* 2000-5000 MFI (vXM pozytywny). Niskie ryzyko HR, ale zwiększone ryzyko wczesnego odrzucania typu humoralnego z uszkodzeniem graftu. Wykonanie decydującego o trans-

plantacji CM-CDC

* >5000 MFI (vXM pozytywny). Przeciwwskazanie do transplantacji. Pacjent czeka na innego dawcę, z innymi HLA. Biologiczny CM-CDC nie jest wykonywany.

W nowym algorytmie zaproponowaliśmy rezygnację z przedziałów cut-off MFI. Wirtualny cross-match będzie określony jako dodatni tylko w przypadku obecności litycznych przeciwciał anty-HLA wobec dawcy (DSA) określonych w badaniu Luminex C1q (+). Dodatni vXM oznaczałby dla pacjenta, ze względu na obecność litycznych DSA, oczekiwanie na innego dawcę. Takie postępowanie pozwala jeszcze bez komórek dawcy przewidzieć z wysokim prawdopodobieństwem dodatnią biologiczną próbę krzyżową lub ryzyko powikłań późniejszych. Biorca z ujemnym vXM będzie zakwalifikowany do biologicznej próby krzyżowej XM-CDC z pulą limfocytów T i B oraz B, a u biorców z wcześniej potwierdzonymi przeciwciałami IgM dodatkowo XM-CDC DTT. Zgodnie z przyjętymi od lat światowymi wytycznymi przeciwciała anty-HLA klasy IgG swoiste dla dawcy, wykrywane testem CDC, uznaje się za przeciwwskazanie do transplantacji, podczas gdy DSA wykryte innymi metodami traktowane są jako wyraz różnego stopnia ryzyka.

Obecność nielitycznych DSA (C1q-) u pacjentów z ujemną próbą krzyżową CDC byłoby informacją o podwyższonym ryzyku immunologicznym. Przy ujemnym wyniku (XM-CDC) dopuszczającym pacjentów do retransplantacji z obecnymi L-SAB DSA >3000 MFI, oraz pacjentów do pierwszej transplantacji z DSA >5000 MFI zalecane byłoby wykonanie opcjonalnie próby krzyżowej metodą cytometrii przepływowej (FCXM) . W razie akceptacji przez transplantologa zwiększonego ryzyka immunologicznego konieczne dobranie odpowiedniego protokołu immunosupresji oraz monitorowanie po transplantacji.

Również opcjonalnie, dla pacjentów wysokiego i najwyższego ryzyka immunologicznego, należałoby rozważyć powtórzenie XM-CDC w surowicy nie starszej niż 24 godziny oraz, z dużą ostrożnością, u biorcy do re-tx dopuszczenie przeszczepienia wobec powtórzonej niezgodności HLA (MM) pod warunkiem, że znana jest historia poprzedniego przeszczepu np. szybka utrata narządu z przyczyn nieimmunologicznych, brak historycznych i aktualnych przeciwciał anty-DSA wobec powtórzonego MM, a biorca przeszedł graftektomię i nie przyjmuje immunosupresji. W razie akceptacji zwiększonego ryzyka immunologicznego przez transplantologa i przeszczepieniu biorców z obecnymi nielitycznymi DSA powinno być włączone monitorowanie produkcji de novo przeciwciał anty-HLA, zwłaszcza DSA, z oceną wiązania składowej dopełniacza C1q.

Stratyfikacja grup ryzyka immunologicznego odrzucania

Prawidłowa ocena wykrytych w laboratorium przeciwciał, możliwa jest wyłącznie w korelacji z kliniczną informacją o przyczynie ich produkcji (transplantacje, transfuzje, ciąże, graftektomie, masywne zakażenia, bieżące szczepienia, leki biologiczne). Bieżąca weryfikacja pozwoli na przed-przeszczepowe wyodrębnienie grup ryzyka immunologicznego odrzucania i odpowiednie postępowanie diagnostyczne przy doborze dawca-biorca, postępowanie kliniczne w zakresie odczulania i zastosowania protokołu immunosupresji oraz monitorowanie po transplantacji. W zależności od ilości i rodzaju wykrytych przeciwciał, zaproponowaliśmy podział na cztery grupy ryzyka immunologicznego odrzucania graftu: standardową, średnia, wysoką i najwyższą. Do grupy standardowej, najłatwiejszej do przeszczepienia z immunologicznego

punktu widzenia, zaliczyliśmy chorych, u których PRA CDC nie przekracza 5%, a w teście L-screen są ujemni. Statystycznie na liście oczekujących jest to ok. 60% potencjalnych biorców. Uzyskanie ujemnego wyniku w przed-przeszczepowej próbie krzyżowej CDC oznacza zgodę na transplantację ze standardowym ryzykiem immunologicznego odrzucania. Grupa średniego ryzyka, to pacjenci zgłoszeni do pierwszego przeszczepienia, ale immunizowani innymi czynnikami niż wcześniejsza transplantacja, z wartością vPRA poniżej 85%. Pacjenci z vPRA w granicach 50-84% powinni otrzymać dodatkowe punkty w zasadach alokacji. Ujemny vXM, ujemny biologiczny cross-match CDC oraz brak DSA pozwalałby na transplantację. Przy obecności nielitycznych DSA >5000 MFI należy opcjonalnie rozważyć dodatkowo wykonanie próby krzyżowej metodą cytometrii przepływowej a po przeszczepie monitorowanie dynamiki zmian przeciwciał anty-HLA, a zwłaszcza produkcji de novo.

Do grupy wysokiego ryzyka immunologicznego należy zaliczyć pacjentów zgłoszonych do re-transplantacji. Identyfikacja aloprzeciwciał tak jak w grupie średniego ryzyka. Dodatkowe badanie FCXM, rozważenie odczulania (zwłaszcza przy vPRA 50-84%) oraz monitorowanie aloprzeciwciał po transplantacji przy obecnych nielitycznych DSA o wartości >3000 MFI.

Grupa najwyższego ryzyka immunologicznego odrzucania i utraty przeszczepu, to pacjenci najsilniej immunizowani (vPRA>85%) i wielokrotnie odrzucani z listy biorców z powodu dodatniego biologicznego CM CDC. Wg Eurotransplantu zazwyczaj jest to ok.2% liczby zgłoszonych chorych. Jest to grupa bardzo trudna, wymagająca szczególnego programu identyfikacji przeciwciał w zakresie swoistości, liczności oraz eliminacji fałszywie dodatnich przeciwciał przeciw zdenaturowanym antygenom. W celu poprawnej interpretacji znaczenia wykrytych przeciwciał i doboru w zakresie akceptowalnych niezgodności badania powinny być wykonane w szerokim zakresie HLA (A,B,C,DR,DQA/DQB, DPA/DPB) i na poziomie wysokiej rozdzielczości. Obligatoryjne powinno być odczulanie pacjenta z monitorowaniem oraz wykonanie obydwu biologicznych testów cross-match – XM CDC i FCXM. Ze względu na czas potrzebny do przygotowania biorcy do zabiegu przeszczepienia oraz precyzyjne dobranie dawcy, najlepszymi dawcami byliby żywi dawcy rodzinni lub z programu przeszczepów łańcuchowych.

Korzyści wynikające z proponowanych zmian w algorytmie diagnostycznym oceny immunizacji potencjalnego biorcy przeszczepu nerki

* wykrycie istotnych klinicznie przeciwciał anty-HLA o właściwościach litycznych i określenie nieakceptowalnych niezgodności (UAMs) potencjalnego dawcy
* obliczenie vPRA, oszacowanie szansy biorcy na transplantację, przyznanie dodatkowe punkty w alokacji
* wskazanie biorców standardowego ryzyka immunologicznego z obecnymi auto/allo przeciwciałami IgM - obecnie z niską szansą na transplantację z powodu powtarzających się dodatnich CM CDC
* wykonanie vXM – analiza HLA dawcy wobec wykrytych u biorcy litycznych DSA (C1q+) w celu wskazania biorców do biologicznej próby krzyżowej (CM-CDC)
* w wybranych przypadkach (obecność nielitycznych DSA u biorcy z ujemnym CM CDC) wskazanie opcjonalnych, dodatkowych badań (FCXM, monitorowanie po przeszczepie wytwarzania de novo przeciwciał anty-HLA)

* przyporządkowanie chorych z KLO do grupy ryzyka immunologicznego odrzucania w celu podjęcia odpowiedniego postępowania klinicznego

Podsumowanie Prezentowany cykl publikacji okazał się mieć duże zastosowanie w praktyce klinicznej. Zaproponowany projekt po wielu konsultacjach z przedstawicielami transplantologów klinicznych oraz diagnostów laboratoryjnych (konferencje, Kongres PTT 2019) uzyskał pozytywną opinię Krajowego Konsultanta ds. Immunologii, przedstawicieli Krajowej Rady Transplantacyjnej oraz przedstawicieli Centrum Koordynacyjno-Organizacyjnego ds. Transplantacji „Poltransplant". Przygotowywane obecnie nowe Ustawowe Rejestry Transplantacyjne będą uwzględniały omówione aspekty immunologicznej laboratoryjnej diagnostyki transplantacyjnej – zarówno przed-transplantacyjnej jak i (co jest nowością) monitorowania po-transplantacyjnego. Przy nowej funkcjonalności informatycznej możliwe będzie śledzenie wyników przeszczepienia i lepsza interpretacja zarówno w zakresie doboru dawca – biorca immunizowany, jak i modyfikacji postępowania leczniczego w celu poprawy i przedłużenia funkcji przeszczepionej nerki.

Jednym z osiągnięć współczesnej medycyny jest zniesienie bariery wieku dla wykonywania procedur medycznych. Przykładem są przeszczepienia narządowe, w tym głównie nerek, u ludzi starszych. Jednym z ważniejszych medycznych problemów pacjentów po przeszczepie są efekty uboczne leczenia podtrzymującego, ważne ze względu na współistniejące schorzenia, które mogą ujawnić się lub ich przebieg może zostać zaostrzony na skutek stosowanych leków immunosupresyjnych. Narastająca niewydolność układu odpornościowego w wieku starszym powoduje, że w wielu przypadkach dawkowanie immunosupresji jest niedostosowane i dawki odpowiednie dla młodszych pacjentów mogą doprowadzać do ciężkich powikłań u biorców w wieku starszym. Niedobory immunologiczne związane z wiekiem w transplantacjach mogą teoretycznie oznaczać możliwość zmniejszenia dawek przy teoretycznie mniejszym ryzyku odrzucania. Ocena przeprowadzona na 80 000 pacjentów po przeszczepie nerki pochodzących z amerykańskiego rejestru dawców (UNOS) wykazała istotnie mniejszy odsetek ostrego odrzucania w tej grupie wiekowej, co zasugerowało możliwość obniżenia supresji w terapii podtrzymującej u ludzi starszych, chociaż nie wszystkie prace potwierdzają te obserwacje. Populacja jest zbyt heterogenna, by wiek był jedynym wyznacznikiem pozwalającym na przewidywanie wyniku transplantacji.

Publikacja nr 6 włączona przeze mnie do prezentowanego cyklu prac z zakresu immunologii przeszczepiania nerek dotyczy oceny wpływu immunosenescencji na ryzyko odrzucania graftu (byłam w tej pracy kierownikiem projektu badawczego własnego, N N402 420738, grant MNiSW/NCN)

* **Publikacja nr 6: Immunosenescence increases the rate of acceptance of kidney allotransplants in elderly recipients throught exhaustion of CD4+T-cells Mech. Ageing Dev.; 2010 : vol. 131, s. 96-104.**

Cel: Retrospektywna analiza biorców nerki w wieku $>$ 60 r.ż. i ich par $<$60 r.ż. stymulowanych aloantygenami od tego samego dawcy. Celem było porównanie w tych parach wskaźników układu odpornościowego umożliwiających ocenę wpływu starzenia układu immunologicznego na ryzyko ostrego odrzucania aloprzeszczepu oraz wskazanie potencjalnych biomarkerów tego procesu.

Zależne od wieku niedobory immunologiczne, tzw. immunosenescencja, u starszych pacjentów może być sojusznikiem w uzyskaniu lepszego wyniku po transplantacji narządu. Założyliśmy, że starzenie się układu immunologicznego może być jedną z przyczyn, braku odrzucania lub co najmniej jego znacznego opóźnienia. Proces starzenia dotyczy odporności nabytej i określony może zostać jako akumulacja anergicznych, terminalnie zróżnicowanych limfocytów, głównie z powodu starcia ich telomerów i braku aktywnych naiwnych komórek. Uważa się, że głównym czynnikiem przyspieszającym starzenie się układu odpornościowego są przewlekłe, subklinicznie przebiegające infekcje CMV. Ma to szczególne znaczenie dla osób przeszczepionych. Infekcje CMV mogą być dla przeszczepionych, będących na przewlekłej podtrzymującej terapii immunosupresyjnej pacjentów, bardzo groźne, a nawet śmiertelne. Z tego powodu szczególny nadzór immunologicznego statusu jest ważny dla dostosowania dawki immunosupresji, zwłaszcza u chorych z immunosenescencją. Niektóre cechy immunostarzenia, nazywane ogólnie jako „immunologiczny profil ryzyka", są szczególnie mocno związane z kliniką i mogą być użyte do przewidywania ryzyka zachorowalności i śmiertelności u starszych. Należą do nich zwłaszcza obecność przeciwciał anty-CMV (seropozytywność), ekspansja klonów limfocytów

T CD28- ze „startymi" telomerami, obniżenie liczby komórek T CD4+ kosztem dysfunkcjonalnych, terminalnie zróżnicowanych CMV-swoistych komórek T CD8+CD28-, zmniejszonej liczby limfocytów B i słabą odpowiedzią proliferacyjną limfocytów T. Widać więc wyraźnie, że możliwe jest dokładne rozróżnienie i ustalenie cech immunostarzenia związanych ze stanem klinicznym.

Wierząc, że takie swoiste markery mogą być również zaznaczone u starszych biorców narządu, poszukiwaliśmy w naszym badaniu cech immunostarzenia, które byłyby związane z przebiegiem po-transplantacyjnym u biorców allogenicznego przeszczepu nerki bez obecności odrzucania, w wieku starszym (>60 lat) oraz w grupie młodszej (<60 lat).

Badania wykonaliśmy u 36 biorców podzielonych na dwie grupy: 19 chorych „starszych" >60 r.ż. i 17 „młodszych" <60 r.ż., a obie grupy wiekowe podzielono według historii ostrego odrzucenia. Należy podkreślić, że 10 par, każda składająca się ze starszego i młodego biorcy, otrzymało nerki od tych samych dawców, co było ważne w aspekcie zmniejszenia wpływu dawcy na wyniki. Żaden z biorców nie otrzymał leczenia indukcyjnego. Nasze badania wykonaliśmy w okresie 1-3 lat po transplantacji u chorych, którzy mieli udowodnione biopsją ostre odrzucanie w pierwszym roku po przeszczepieniu. Potwierdzonych było 14 przypadków ostrego odrzucania, po 7 dla każdej grupy wiekowej. Wszystkie epizody odrzucania były wrażliwe na steroidy i ustąpiły po leczeniu. Funkcjonowanie przeszczepu monitorowano wg kryteriów klinicznych, a pacjentów podzielono według pogorszenia funkcji przeszczepu. Brak wykonania w tym czasie biopsji, w większości przeszczepów nie pozwolił na ustalenie ostatecznej diagnozy śródmiąższowego zwłóknienia/zaniku kanalików (IF/TA) lub zgodnie z wcześniejszą klasyfikacją „przewlekłej nefropatii alloprzeszczepowej" (CAN). Z tego powodu w odniesieniu do przewlekłych zmian w przeszczepie w trakcie badania, użyliśmy tylko terminu roboczego „przewlekła dysfunkcja przeszczepu" (ChAD, Chronic Allograft Dysfunction).

W badaniach zastosowaliśmy metody cytometrii przepływowej, FISH, ELISA, hodowli (MLC), real-time PC r. W populacjach limfocytów T CD4+ i CD8+ zbadany został fenotyp, długość telomerów, ekspresja FoxP3 i odpowiedź proliferacyjna. Dodatkowo zmierzono IL-6, IL-10 i TGF beta, na poziomie mRNA oraz białek w surowicy.

Otrzymane wyniki badań wykazały, że krótkie telomery limfocytów T CD4+ związane były z brakiem historii ostrego odrzucenia u starszych biorców przeszczepu nerki. Pacjenci w podeszłym wieku bez ostrego odrzucenia w wywiadzie, wykazali zmniejszoną odpowiedź limfocytów T CD4+ in vitro. Podwyższony poziom IL-6 był kolejnym markerem immunostarzenia się u osób w podeszłym wieku bez ostrego odrzucenia. Historia ostrego odrzucenia była związana z różnicami w ekspresji CD28 w subpopulacjach limfocytów T CD4+ u osób starszych. Zwiększone obciążenie CMV było związane z niskim poziomem limfocytów T CD4+CD28+ u pacjentów w podeszłym wieku bez ostrego odrzutu. Ekspresja czynników supresyjnych (FoxP3, TGF beta) była zaburzona u starszych biorców bez historii ostrego odrzucania.

Sprawdzenie związku pomiędzy przewlekłą dysfunkcją przeszczepu alogenicznego (ChAD) a badanymi parametrami nie wykazało w większości różnic istotnych statystycznie. Najbliższe istotności statystycznej była ekspresja FoxP3.

Porównaliśmy wpływ terapii immunosupresyjnej, chorób współistniejących i wieku na badane parametry. Nie stwierdziliśmy znaczącego wpływu stosowanych leków w terapii na badane parametry. Ponadto, żadna z zastosowanych kombinacji leków nie wykazała lepszej ochrony zarówno przed odrzucaniem ostrym jak i ChAD. W odniesieniu do wieku stwierdzono znaczne skrócenie telomerów w limfocytach T CD4+ oraz miano przeciwciał anty-CMV IgG u pacjentów >60 r.ż. (Spearman odpowiednio: p=0.04 i 0,03). Starzenie wpłynęło na proporcję komórek naiwnych/pamięci; proporcja komórek pamięci została zwiększona kosztem naiwnych

w obu subpopulacjach T CD4+ i CD8+ (Spearman: p,0,05). Poziomy IL-6 w surowicy, ale nie poziomy mRNA były zwykle wyższe u starszych biorców (Spearman: p<0,09). Analiza chorób współistniejących wykazała, że starsi biorcy bez ostrego odrzucania mieli w historii dłuższy czas dializoterapii (średnia 18 miesięcy) w porównaniu do grupy z ostrym odrzucaniem (średnia 5 miesięcy), p=0,048. Pacjenci nie różnili się historią hospitalizacji z powodu epizodów zakażeń, w tym klinicznych objawów CMV.

Podsumowanie Starsi biorcy nerki bez epizodów ostrego odrzucania wykazywali obniżenie aktywności układu immunologicznego, charakteryzujące się zmniejszoną liczbą limfocytów T CD28+ zwiazaną z CMV-seropozytywnością, słabszą proliferacją limfocytów T CD4+ oraz skróconymi telomerami w tych komórkach. Starsi biorcy z epizodami odrzucania mieli zachowaną długość telomerów, wyższą liczbę funkcjonalnych komórek CD4+CD28+ oraz silną proliferację In vitro. U osób w grupie „młodszych" nie zaobserwowano takiej zależności. Na tej podstawie wysnuliśmy wniosek, że zjawisko immunsenescencji znacząco wpływa na zmniejszenie ryzyka reakcji immunologicznej w odpowiedzi na alogeniczny przeszczep nerki. Przy czym zjawisko to ogranicza się do osób po 60 r.ż. Osoby starsze, lepiej akceptowały przeszczep nerki aniżeli pacjenci młodsi z wyższym poziomem odporności. Immunostarzenie można by więc traktować jako „naturalny lek immunosupresyjny". W przyszłości prospektywne laboratoryjne badanie wybranych biomarkerów przed transplantacją mogłoby mieć zastosowanie przy ocenie cech immunostarzenia potencjalnego biorcy i ocenie czy są wystarczająco wyraźne by uznać je jako diagnostyczny marker wystąpienia ostrego odrzucania. Ocena głębokości immunosupresji być może będzie pomocna w ustaleniu dawki podtrzymującego leczenia immunosupresyjnego po przeszczepie (w założeniu zredukowana dawka w celu ochrony przed zaostrzeniem chorób układu krążenia, nowotworami i infekcjami) oraz w monitorowaniu zagrożenia odrzuceniem.

5 Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

5.1 Udział w realizacji projektów we współpracy z naukowcami z innych ośrodków

* Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych GUMed przy realizacji programów przeszczepiania nerek (od roku 1980) oraz wysp trzustkowych (od roku 2018)

* Klinika Kardiochirurgii GUMed przy realizacji programów przeszczepiania serca (od roku 2006) oraz płuc (od roku 2018)

* Klinika Hematologii i Transplantologii GUMed przy realizacji programów przeszczepiania alogenicznego szpiku / macierzystych komórek krwiotwórczych od dawców rodzinnych i niespokrewnionych (od roku 1994)

* Krajowa Lista Oczekujących POLTRANSPLANT (od roku 1980) – dobory do przeszczepu narządów unaczynionych, monitorowanie bieżące potencjalnych biorców

Wynikiem współpracy z naukowcami z klinik przeszczepiających GUMed są liczne prace oraz doniesienia konferencyjne dotyczące przeszczepiania narządów unaczynionych oraz szpiku/macierzystych komórek krwiotwórczych w Gdańskim Ośrodku Transplantacyjnym przedstawione w analizie bibliometrycznej dorobku naukowego

Współpraca z Centrum Organizacyjno-Koordaynacyjnym ds. Transplantacji „Poltransplant" oraz Krajową Listą Oczekujących jest ważna dla ustalania strategii nowoczesnej diagnostyki immunologicznej. Owocem tej współpracy są m.in. wygłoszone przeze mnie referaty wymienione w punkcie „Wygłaszanie referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych". Rezultatem tej współpracy był udział w przygotowaniu programów ministerialnych zadania dotyczącego rozwoju programu przeszczepiania w grupach biorców o podwyższonym ryzyku immunologicznym w celu poprawy wyników leczenia transplantacyjnego realizowanego w ramach Programu Wieloletniego na lata 2011-2020 pn. „Narodowy Program Rozwoju Medycyny Transplantacyjnej"

5.2 Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi

Kierownik projektu badawczego własnego N N402 420738 (Grant MNiSW/NCN). „Cechy układu odpornościowego biorców nerki w wieku starszym jako potencjalny marker możliwości stosowania zmniejszonej immunosupresji podtrzymującej po przeszczepie nerki"

6 Dorobek dydaktyczny

6.1 Zajęcia dydaktyczne na Uczelni

* Zajęcia dydaktyczne (seminaria i ćwiczenia) w Zakładzie Immunologii Klinicznej i Transplantologii (obecnie w Zakładzie Immunologii Medycznej) dla studentów Wydziału Lekarskiego i Oddziału Medycyny Laboratoryjnej GUMed. Przedmiot „Immunologia transplantacji" prowadziłam od początku historii przeszczepów w naszym szpitalu i rozwijałam w miarę rozszerzania zakresu aktywności klinicznej tj. transplantacje narządów unaczynionych: nerek od roku 1980, serca 2006, płuc 2018, wysp trzustkowych 2018 oraz transplantacje macierzystych komórek krwiotwórczych od 1994.

* Wykłady na kursach specjalizacyjnych GUMed z zakresu immunologii transplantacyjnej dla diagnostów laboratoryjnych i lekarzy.

* Zajęcia dydaktyczne z przedmiotu „Immunologia" (seminaria i ćwiczenia) dla studentów Zawodowego Kształcenia Podyplomowego GUMed w zakresie analityki medycznej.

* Wykłady z zakresu immunologii transplantacyjnej na kursach dla koordynatorów transplantacji

* Wykłady z zakresu immunologii transplantacyjnej dla studentów Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii (UG / GUMed)

6.2 Osiągnięcia dydaktyczne w zakresie popularyzacji nauki

* Medyczne Dni Nauki organizowane cyklicznie w maju/czerwcu przez GUMed, (certyfikat uczestnictwa w V Medycznym Dniu Nauki, 25 maja 2012)

* Prowadzenie lekcji edukacyjnych w klasach maturalnych gdańskich szkół licealnych na temat transplantacji narządów unaczynionych i macierzystych komórek krwiotwórczych (lekcje prowadzone zespołowo przez chirurga, koordynatora transplantacji i immunologa)

* Wykłady informacyjne o dawstwie szpiku/macierzystych komórek krwiotwórczych dla potencjalnych dawców w czasie akcji rekrutacyjnych do Ośrodka Dawców Szpiku UCK/CRNPDSiKP

6.3 Opieka nad lekarzami i diagnostami laboratoryjnymi w toku specjalizacji

* Kierownik specjalizacji pięciu diagnostów laboratoryjnych w dziedzinie laboratoryjna immunologia medyczna. Pod moją opieką tytuł specjalisty laboratoryjnej immunologii medycznej uzyskali: mgr Anna Dukat-Mazurek, mgr Marcelina Grabowska, dr n. med. Julia Kulczycka, Mgr Joanna Dębska–Zielkowska, dr n.med. Maciej Zieliński

* Prowadzenie staży cząstkowych dla lekarzy oraz diagnostów laboratoryjnych z zakresu transplantologii klinicznej, alergologii oraz immunologii klinicznej

6.4 Opieka naukowa nad pracami licencjackimi, magisterskimi oraz doktorantami w charakterze promotora pomocniczego

* Opiekun 3 prac licencjackich studentów Oddziału Medycyny Laboratoryjnj Wydziału Farmacji GUMed:

- 2004 r. Anna Morkowska „Metody izolacji DNA z krwi w celu typowania antygenów zgodności tkankowej",

- 2005 r. Karolina Rybarczyk „Alloprzeciwciała a losy przeszczepionego narządu unaczynionego",

- 2006 r. Marta Rapa „Ksenotransplantacje. Fikcja czy realna perspektywa?"

* Opiekun pracy magisterskiej studentki OML GUMed: 2015 r. – Agnieszka Pisarek „Wykrywanie aloprzeciwciał przy pomocy testów fazy stałej u biorców oczekujących na przeszczep nerki"

* Promotor pomocniczy rozprawy na stopień doktora nauk medycznych mgr Hanny Zielińskiej „Algorytm oceny poziomu aloprzeciwciał anty-HLA specyficznych dla dawcy w surowicy biorców przeszczepu nerki". Stopień doktora nauk medycznych nadany 22.01.2015

* Promotor pomocniczy rozprawy na stopień doktora nauk medycznych mgr Macieja Zielińskiego „Ocena wybranych parametrów immunologicznych związanych z infekcją CMV po przeszczepie nerki w kontekście możliwości zmniejszenia leczenia immunosupresyjnego". Stopień doktora nauk medycznych nadany 20.04.2018.

* Promotor pomocniczy rozprawy na stopień doktora nauk medycznych mgr Anny Dukat-Mazurek „Możliwości poprawy wyników transplantacji komórek krwiotwórczych i narządów litych poprzez genetyczną ocenę ryzyka wystąpienia powikłań oraz modyfikację doboru immunologicznego par dawca-biorca przed przeszczepem" Stopień doktora nauk medycznych nadany 07.06.2018

7 Staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich

* Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław, luty 1977, prof. Henryk Matej

* Instytut Transplantologii AM w Warszawie, listopad 1978, doc. Ewa Skopińska

* Statens Serum Institute, Kopenhaga, Dania, luty-marzec 1979, dr Lars Spaerck

* Tissue Typing Lab, Kopenhaga, Dania, kwiecień-czerwiec 1979, dr Arne Svejgaard

* Tissue Typing Lab, Guy's Hospital, Londyn, Wlk.Brytania, czerwiec-październik 1996, dr Robert Vaughan

* International Postgraduate School of Immunogenetics in Transfusion Medicine, Ljubljana, Slovenia, 23-26.10.2001

Moje staże, zwłaszcza w IIiTD we Wrocławiu w Pracowni Zgodności Tkankowej u profesora Henryka Mateja, pioniera w zakresie badań nad układem HLA w Polsce, oraz w Instytucie Transplantologii AM w Warszawie ściśle wiązały się z planami rozpoczęcia programu transplantacji nerek w Gdańsku. Wiedza i umiejętności z zakresu immunologicznej/immunogenetycznej diagnostyki transplantacyjnej musiała być zdobywana od podstaw, ponieważ nie było jej jeszcze w programie nauczania dla studentów Uniwersytetu Gdańskiego ani ówczesnej Akademii Medycznej (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny).

Milowym krokiem było moje czteromiesięczne stypendium w Kopenhadze, finansowane przez duńskie Ministerstwo Edukacji. W czasie pobytu zdobyłam nie tylko potrzebną wiedzę, ale kontakty z ośrodkami w Europie zajmującymi się badaniami układu HLA. Napisanie do tych ośrodków (Paryż, Ulm, Wiedeń, Leiden, Kopenhaga) listów z prośbą o przysłanie przeciwciał do typowania HLA poskutkowało uzyskaniem pierwszych, jeszcze przed-komercyjnych, odczynników do badania układu HLA dawca/biorca. Dzięki wymienionym kontaktom stało się realne stworzenie od podstaw i rozwinięcie od roku 1979 Pracowni Zgodności Tkankowej w strukturze Zakładu Immunopatologii AMG (pod kierownictwem prof. dr hab. med. Albiny Żółtowskiej). PZT włączona została do ścisłej współpracy z zespołem Gdańskiego Ośrodka

Transplantacyjnego – dobory dawca- biorca do przeszczepu narządów unaczynionych. Pierwszy przeszczep nerki w Gdańsku (z naszym udziałem) został wykonany 30 marca 1980 roku.

Obecnie Pracownia Zgodności Tkankowej, będąca w strukturze Laboratorium Immunologii i Transplantologii Klinicznej UCK w Gdańsku,w sposób ciągły udoskonala metody badawcze zgodnie z wymogami Klinik Transplantacyjnych GUMed/UCK oraz wytycznymi krajowymi i międzynarodowymi. Wykonujemy diagnostykę transplantacyjną przy przeszczepach narządów unaczynionych (nerki, trzuska, wyspy trzustkowe, serca, płua) a także szpiku / komórek krwiotwórczych krwi obwodowej.

Pobyt w Londynie w 1996 r. umożliwił biegłe opanowanie technik molekularnych (PCR) w badaniach układu HLA i wprowadzenie nowych metod do rutynowej diagnostyki. Mój pobyt zaowocował wystapieniem na konferencji The Eighth Annual BSHI Conference, Winter Gardens Conference Centre, Weston-Super-Mare, 12-14 February 1997: Moszkowska G., Kondeatis E., Clark A. G. B., Żurowska A., Vaughan r. W. HLA-DRB and -DQBI alleles in Polish patients with hepatitis B associated membranous neprophathy. Eu r. J. Immunogenet. 1997 : vol. 24, nr 1, ab, s. s. 49.
oraz publikacją:
Vaughan r. W., Żurowska A., Moszkowska G., Kondeatis E., Clark A. HLA-DRB and -DQB1 alleles in Polish patients with hepatitis B associated membranousnephropathy. Tissue Antigens 1998 : vol. 52, nr 2, s. 130-134. Punktacja Impact Factor: 2,305

8 Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych

* Polskie Towarzystwo Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej (PTIDiK) – od roku 1985 (pełnione funkcje: skarbnik, członek komisji rewizyjnej)
* Polskie Towarzystwo Immunogenetyczne (PTIg) – od roku 2001 (pełnione funkcje: członek komisji rewizyjnej)
* Polskie Towarzystwo Transplantacyjne (PTT) w latach 1993 – 2009
* British Society of Histocompatibility and Immunogenetics (BSHI) w latach 1996-1998

9 Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych

Udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych

* Członek komitetu organizacyjnego 3-go Zjazdu PTIDiK, Gdańsk, wrzesień 1988
* Członek komitetu organizacyjnego 14-tego Zjazdu PTIDiK, Gdańsk, czerwiec 2011

10 Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową

* Dyplom „PRO TRANSPLANTATIONIBUS FOVENDIS" przyznany 15.04.2017 r. przez Polskie Towarzystwo Transplantacyjne i wręczony podczas XIII Kongresu Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego

11 Wygłaszanie referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych

Moszkowska G. „Immunologiczny dobór do przeszczepu narządów unaczynionych" 14. Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Gdańsk 16-18.06.2011

Moszkowska G. „Przedtransplantacyjna ocena aloprzeciwciał u biorców podwyższonego ryzyka immunologicznego" Konferencja Naukowo-Szkoleniowej „Badania Immunogenetyczne w Transplantologii i Diagnostyce", X lecie Polskiego Towarzystwa Immunogenetycznego, 23-24.11.2012 Otrębusy k/Warszawy

Moszkowska G. „Wirtualny cross-match: czy jest miejsce do zastosowania w przeszczepianiu serca i płuc?", XII Kongres Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego, 3-5 września 2015r., Gdańsk

Moszkowska G. „Cut-off a wirtualny crossmatch" Spotkanie w Centrum Organizacyjno-Koordynacyjnym ds. Transplantacji POLTRANSPLANT poświęcone nowym metodom kwalifikacji immunologicznej chorych oczekujacych na przeszczepienie nerki. 29.10.2015, Warszawa

Moszkowska G. „Immunologiczny dobór nerek od dawców zmarłych. Przed-transplantacyjna ocena ryzyka odrzucania zależnego od przeciwciał w oparciu o test XM-CDC i wykryte DSA. Czy w Polsce potrzebne są wytyczne w tym zakresie?" Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Aktualne trendy w immunogenetyce jako wsparcie współczesnej transplantologii", XV-lecie Polskiego Towarzystwa Immunogenetycznego, 19-20.04.2017, Warszawa

Moszkowska G. „Ośrodek Dawców Szpiku UCK w Gdańsku", Konferencja Szkoleniowo-Naukowa podsumowujących coroczne wyniki transplantacji w UCK Gdańsk. 14.03.2017, Gdańsk

Moszkowska G. „Aktywność ODS UCK. Poszukiwania i dobór niespokrewnionych dawców komórek krwiotwórczych" Konferencja Szkoleniowo-Naukowa podsumowujących coroczne wyniki transplantacji w UCK Gdańsk 27.03.2018, Gdańsk

Moszkowska G. „Wirtualne PRA i wirtualny crossmatch" „Kliniczne i laboratoryjne aspekty oznaczania i identyfikacji przeciwciał anty-HLA" Konferencja KCBTiK 30.11.2018, Warszawa

Moszkowska G. „"Przeszczepy nerek – rola immunologa w procesie transplantacji", Konferencja KIDL „Medycyna laboratoryjna – interdyscyplinarna rola Medycznego Laboratorium Diagnostycznego w systemie ochrony zdrowia" 22.11.2019, Gdańsk

Moszkowska G. „Biorcy wysokozimmunizowani – identyfikacja, leczenie i monitorowanie", Spotkanie kierowników ośrodków kwalifikujących i przeszczepiających nerki, pracowni typowania tkankowego oraz koordynatorów transplantacyjnych, Poltransplant, 18.06.2019, Warszawa

Moszkowska G. „Diagnostyka immunologiczna chorych oczekujących na przeszczepienie nerki" w sesji „Współczesna diagnostyka immunologiczna" 14. Kongres Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego, 17-19.10.2019, Zakopane

Moszkowska G. "Diagnostyka immunologiczna chorych oczekujących na przeszczepienie nerki – nowy algorytm badań i kryteria wyboru biorcy nerki' Spotkanie on-line kierowników ośrodków kwalifikujących I przeszczepiających nerki oraz trzustkę, koordynatorów transplantacyjnych z tych ośrodków oraz kierowników pracowni zgodności tkankowej, Poltransplant, 10.11.2020r., Warszawa

12 Uczestnictwo w programach europejskich, informacja o współpracy międzynarodowej habilitanta

* Współpraca z Tissue Typing Laboratory, Guy's Hospital, Londyn przy realizacji badań związku immunogenetycznej predyspozycji do nefropatii błoniastej po infekcji hepatitis B u dzieci. Wynik współpracy m.in. publikacja : Vaughan R.W., Żurowska A., **Moszkowska G.**, Kondeatis E., Clark A.G.B. "HLA-DRB and DQB1 alleles in hepatitis B membranous nephropathy in children" Tissue Antigens, 1998, vol. 52, nr 2, s. 130-134

* Współpraca z Transplantation Research and Immunology Group (TRIG), Nuffield Department of Surgery Uniwersytetu Oksfordzkiego. Wynik współpracy praca oryginalna z zakresu biologii limfocytów T regulatorowych: Trzonkowski P., Dębska-Ślizień A., Jankowska M., Wardowska A., Carvalho-Gaspar M., Hak Ł., **Moszkowska G.**, Bzoma B., Mills N., Wood K. J., Myśliwska J., Rutkowski B.: "Immunosenescence increases the rate of acceptance of kidney allotransplants in elderly recipients throught exhaustion of CD4+T-cells": Mech. Ageing Dev., 2010 : vol. 131, s. 96-104

13 Kursy i udział w konferencjach szkoleniowych

* IV Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego, 5-7.05.2000, Jurata

* EFIS-CIG Educational Session on „Proinflammatory cytokines in diagnosis and disease" 26.10.2000, Poznań

* Kurs, 12th Biotest HLA Workshop, Frequent Alleles, Potsdam, Germany 27-30.05.2001
* European Immunology Congress, Educational Lecture, 8-9.06,2003. Rhodes, Greece
* Transplant Histocompatibility Workshop, The University of Texas Health Science Center at Houston and Transplantation Institute, Warsaw Medical School, Warszawa, 09.05.2005
* Konferencja naukowo-szkoleniowa „Immunogenetyka w Hematologii Transplantacji Komórek Macierzystych, 8-10.02.2006, Wrocław
* IX Warsztaty Transplantacji Szpiku, 17-18.11.2006, Warszawa
* Sympozjum „Eozynofile – przyczyny, rozpoznawanie, leczenie, Oddział Gdański Polskiego Towarzystwa Alergologicznego, 02.12.2006, Gdańsk
* Sympozjum „Standaryzacja w immunologii" , 17-18.05.2007 r. Poznań
* Sympozjum "Molecular Approach to the Diagnosis and Monitoring of Blood Neoplasia" 09.01.2008, Warszawa
* Szkolenie Transplantologiczne dla pracowników banków tkanek I komórek, osób kwalifikujących dawców I pobierających tkanki oraz oznaczających zgodność HLA, 27-29.09.2009, Zamość
* Donor Recipient Matching and Cellular Therapy In Transplantation: Technological and Clinical Aspects, 23-24.04.2009, Wrocław
* Kurs podyplomowy w ramach Konferencji EFI 2011, 04.04.2011, Praga, Czechy
* Certyfikat: „Szkolenie osób, których czynności bezpośrednio wpływają na jakość komórek, tkanek i narządów, a także bezpieczeństwo dawców i biorców" , Centrum Organizacyjno-Koordynacyjne ds. Transplantacji „Poltransplant", 8-9.12.2011, Warszawa
* Certyfikat uczestnictwa „Testy komórkowe: metody i narzędzia do badania odpowiedzi komórkowej", Cykl seminariów 2012, Promega, 09.10.2012, Mannheim Niemcy
* Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Badania Immunogenetyczne w Transplantologii i Diagnostyce", X lecie Polskiego Towarzystwa Immunogenetycznego, 23-24.11.2012 Otrębusy
* Certyfikat uczestnictwa 1st Immunodeficiency Meeting CSL Behring, Intercontinental „Immunoterapia. Interdyscyplinarne studium przypadków, 23-24.05.2013 Sopot
* Spotkanie w Centrum Organizacyjno-Koordynacyjnym ds. Transplantacji POLTRANSPLANT poświęcone nowym metodom kwalifikacji immunologicznej chorych oczekujących na przeszczepienie nerki, 29.10.2015, Warszawa
* Zaświadczenie nr 2016/1/214 potwierdzające odbycie szkolenia ustawicznego osób, których czynności bezpośrednio wpływają na jakość komórek, tkanek lub narządów, a także bezpieczeństwo dawców i biorców, Centrum Organizacyjno-Koordynacyjnym ds. Transplantacji POLTRANSPLANT, 03-04.11.2016, Warszawa

* Zaświadczenie 17/Z/2016 RCKiK w Gdańsku potwierdzające odbycie szkolenia „Inaktywacja biologicznych czynników chorobotwórczych – bezpieczeństwo przetaczania krwi i jej składników", 29.01.2016, Gdańsk

* Szkolenie ustawiczne KCBTiK, „Organizacja współpracy i leczenie z zastosowaniem hematopoetycznych komórek macierzystych",04-05.12.2017 Zegrze k/Warszawy

* Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Aktualne trendy w immunogenetyce jako wsparcie współczesnej transplantologii", XV-lecie Polskiego Towarzystwa Immunogenetycznego, 19-20.04.2017, Warszawa

* Cykliczny udział w Konferencjach Szkoleniowo-Naukowych podsumowujących coroczne wyniki transplantacji w UCK Gdańsk

* Zaświadczenie nr 2018/1/13 KCBTiK, potwierdzające odbycie szkolenia ustawicznego „Kliniczne i laboratoryjne aspekty oznaczania i identyfikacji przeciwciał anty-HLA" 29-30.11.2018, Warszawa

* Spotkanie kierowników ośrodków kwalifikujących i przeszczepiających nerki, pracowni typowania tkankowego oraz koordynatorów transplantacyjnych 18.06.2019, Poltransplant, Warszawa

* Kurs KIDL w ramach szkolenia doskonalącego dla diagnostów laboratoryjnych „Medycyna laboratoryjna – interdyscyplinarna rola Medycznego Laboratorium Diagnostycznego w systemie ochrony zdrowia" 22.11.2019, Gdańsk

* Szkolenie w zakresie typowania antygenów zgodności tkankowej HLA metodą Next Generation Sequencing, Copernicus Diagnostics Sp.z o.o./Immucor, 23-25.06.2020

* Certyfikat uczestnictwa „Virtual Extramural Tissue Typers Meeting of Eurotransplant", 27.11.2020

14 Wykonane ekspertyzy

* Od roku 2016 – jestem upoważnionym przedstawicielem Ministra Zdrowia wskazanym przez Konsultanta Krajowego w dziedzinie Immunologii Klinicznej do przeprowadzania kontroli w Medycznych Laboratoriach Diagnostycznych na podstawie art.35 ust. 2 USTAWY (tekst jednolity - Dz. U. z 2015 poz. 793 z późn. zm.).
Kontrole w Medycznych Laboratoriach Diagnostycznych – HLA, w których uczestniczyłam: Wojskowym Instytucie Medycznym w Warszawie (15.01.2016 r.), Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie (14.09.2016 r.) , Instytucie CZD w Warszawie (15.09.2016 r.), Uniwersyteckim Szpitalu Dziecięcym w Krakowie (12.01.2017 r.), Szpitalu Klinicznym Dzieciątka Jezus w Warszawie (17.01.2017 r.)

* Od roku 2016 – jestem upoważnionym przedstawicielem Ministra Zdrowia wskazanym przez Konsultanta Krajowego w dziedzinie Hematologii do przeprowadzania kontroli w Ośrodkach Dawców Szpiku na podstawie art.35 ust. 2 USTAWY (tekst jednolity - Dz.

U. z 2015 poz. 793 z późn. zm.)
Kontrole, w których uczestniczyłam: w ODS WIM w Warszawie (14.01.2016 r.), ODS IHIT w Warszawie (24.02.2016 r.), w Fundacji DKMS Baza Dawców Komórek Macierzystych Polska w Warszawie (04.05.2016 r.).

15 Inne osiągnięcia

Uczestnictwo w konkursach Ministerstwa Zdrowia w zakresie Narodowego Programu Rozwoju Medycyny Transplantacyjnej na lata 2011-2020 (i wcześniejszych) i pozyskiwanie środków finansowych na realizację zadania „Rozwój programu przeszczepiania w grupach biorców o podwyższonym ryzyku immunologicznym w celu poprawy wyników leczenia transplantacyjnego".
Aktywność ta zaowocowała opracowaniem nowych standardów (w których Gdański Ośrodek Transplantacyjny odgrywa ważną rolę) doboru do przeszczepu narządów unaczynionych pacjentów z grupy podwyższonego ryzyka immunologicznego i wdrożeniem nowego systemu doboru w biorców w Ustawowych Rejestrach Transplantacyjnych Ministerstwa Zdrowia.

* opracowanie rozdziału „Ocena ryzyka immunologicznego u biorców nerek oparciu o dostępne w Rejestrach Ustawowych wyniki badań obecności alloprzeciwciał" Zalecenia dotyczące leczenia immunosupresyjnego po przeszczepieniu narządów unaczynionych opracowane przez: Polskie Towarzystwo Transplantacyjne pod redakcją Magdaleny Durlik i Krzysztofa Zieniewicza, Warszawa, grudzień 2016

* opracowanie rozdziału „Ocena ryzyka immunologicznego u biorców nerek oparciu o dostępne w Rejestrach Ustawowych wyniki badań obecności alloprzeciwciał" Zalecenia dotyczące leczenia immunosupresyjnego po przeszczepieniu narządów unaczynionych opracowane przez: Polskie Towarzystwo Transplantacyjne pod redakcją Magdaleny Durlik i Piotra Przybyłowskiego, Warszawa, grudzień 2018

Znaczący udział w pracach nad nowym algorytmem badań immunologicznych przy doborze dawca-biorca do przeszczepu narządów unaczynionych, ze szczególnym uwzględnieniem chorych wysokozimmunizowanych.

Obecnie na poziomie MZ / Poltransplant toczą się prace wdrożeniowe: opracowanie nowego systemu informatycznego Ustawowych Rejestrów Transplantacyjnych (współpraca z informatykami z CSIOZ), konkursy ministerialne na sprzęt dla Pracowni Zgodności Tkankowej, przewidywane konkursy na dodatkowe badania diagnostyczne, zgodnie z założeniami nowego algorytmu, ze szczególnym uwzględnieniem rozszerzenia o dodatkowe loci typowania HLA, oraz identyfikacji aloprzeciwciał wiążących dopełniacz (Luminex C1q) oraz przeciwciał klasy IgM wykrywanych w teście CDC.

15.1 Osiągnięcia organizacyjne

* Kierowanie Laboratorium Immunologii i Transplantologii Klinicznej Uniwersyteckiego Centrum Medycyny Laboratoryjnej UCK w Gdańsku od roku 2008. Nadzór i systema-

tyczne wprowadzanie nowych badań diagnostycznych w Laboratorium Immunologii i Transplantologii Klinicznej Uniwersyteckiego Centrum Medycyny Laboratoryjnej UCK w Gdańsku z zakresu immunologii klinicznej: https://bit.ly/30AH83v

* Stworzenie od podstaw i rozwinięcie od 1979 r. Pracowni Zgodności Tkankowej w strukturze Zakładu Immunopatologii AMG (pod kierownictwem prof. dr hab. med. Albiny Żółtowskiej). PZT włączona została do ścisłej współpracy z zespołem Gdańskiego Ośrodka Transplantacyjnego – dobory dawca- biorca do przeszczepu narządów unaczynionych (nerki, trzustka, wyspy trzustkowe, serce, płuca) oraz szpiku / komórek krwiotwórczych krwi obwodowej. Pracownia Zgodności Tkankowej, będąca w strukturze Laboratorium Immunologii i Transplantologii Klinicznej UCK w Gdańsku ,w sposób ciągły udoskonala metody badawcze zgodnie z wymogami Klinik Transplantacyjnych GUMed/UCK oraz wytycznymi krajowymi i międzynarodowymi.
Uzyskanie Pozwolenia Ministra Zdrowia (MZ-PZ-TSZ-026-6281-7/SW/11) dla Pracowni Zgodności Tkankowej na testowanie próbek do badań oraz testowanie komórek, tkanek i narządów, w rozumieniu art. 37 ust. 1 ustawy o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów.

* Współudział w utworzeniu i bieżącej pracy Ośrodka Dawców Szpiku Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego (jestem zastępcą kierownika ds. organizacyjno-administracyjnych ODS UCK). Dzięki intensywnej pracy i zaangażowaniu zespołu LIiTK, we współpracy z koordynatorami transplantacji UCK, pozyskano w czasie akcji rekrutacyjnych ponad 20 000 potencjalnych dawców szpiku/kk do ODS UCK (stan na dzień 31 grudnia 2019r), wśród których od 36 osób nastąpiło pobranie materiału przeszczepowego dla chorych w Polsce i na świecie (m.in. USA, Kanada, Hiszpania, Włochy, Węgry, Finlandia, Niemcy, Wielka Brytania) (informacja z dn.04.10.2021).
Uzyskanie Pozwolenia Ministra Zdrowia (MZ-PZ-TSZ-026-6276-12/SW/11) dla ODS UCK na pozyskiwanie potencjalnych dawców allogenicznego szpiku i komórek krwiotwórczych krwi obwodowej, w rozumieniu art. 16a ust. 1 ustawy o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów.

* Uruchomienie w roku 2017 Pracowni Doboru Dawców Komórek Krwiotwórczych w strukturze Laboratorium Immunologii i Transplantologii Klinicznej UCK, ze współpracą z rejestrami światowymi należącymi do WMDA (World Marrow Donor Association). Jest to jedna z zaledwie siedmiu tego typu pracowni w całej Polsce.

* W latach 1999-2005 przedstawiciel grupy pracowników niebędących nauczycielami akademickimi do Rady Wydziału Lekarskiego GUMed

* W latach 2000 – 2006 przewodnicząca komisji w salach egzaminacyjnych przy egzaminach wstępnych kandydatów na studia WL AMG/GUMed

* Certyfikat Audytora Wewnętrznego Akademii Medycznej w Gdańsku, Centrum Zarządzania Techniką I Jakością Uniwersytetu Loyola Marymount, Los Angeles USA, przy Politechnice Gdańskiej w Gdańsku, 31.01.2006

15.2 Otrzymane nagrody i wyróżnienia

Nagrody Rektora AMG/GUMed:

* 1981 – za „szczególnie znaczący udział w realizacji programu transplantacji nerek w Akademii Medycznej w Gdańsku.
* 1992 – za „osiągnięcia w roku 1991"
* 2001 – Zespołowa Nagroda Naukowa Drugiego Stopnia za zestaw publikacji poświęconych badaniom HLA w gruźlicy
* 2002 – Zespołowa Nagroda Drugiego Stopnia za immunohistochemiczne badania patogenezy chorób nowotworowych
* 2005 – za aktywny udział i zaangażowanie w rozwój przeszczepiania nerek w Gdańskim Ośrodku Transplantacyjnym
* 2008 - Nagroda Naukowa Zespołowa II-go Stopnia za cykl publikacji dotyczących przeszczepiania nerek
* 2008 - Nagroda Naukowa Zespołowa II-go Stopnia za badania nad analizą antygenów HLA klasy II w sarkoidozie płuc
* 2009 – Nagroda za Osiągnięcia Organizacyjne za wkład pracy własnej w propagowanie i przeprowadzanie przeszczepów nerek w Uniwersyteckim Centrum Klinicznym
* 2011 - Nagroda Naukowa Zespołowa II-go Stopnia za badania układu odpornościowego biorców nerki w wieku podeszłym

Inne nagrody:

* Złoty Skalpel 2008 cykliczny konkurs organizowany przez redakcję PULS MEDYCYNY – nagroda zespołowa za wdrożenie programu „Wyprzedzający przeszczep nerki w trosce o lepszą jakość życia"
* Tytuł „Zasłużony diagnosta laboratoryjny" nadany przez Krajową Radę Diagnostów Laboratoryjnych – 2012 r.
* Dyplom Ministra Zdrowia z dn. 14.10.2016 r. za wkład pracy i zaangażowanie w proces kształcenia kadr medycznych w związku z pełnieniem funkcji kierownika specjalizacji Anny Dukat-Mazurek w dziedzinie laboratoryjnej immunologii medycznej i osiągnięcie przez nią najlepszego wyniku egzaminacyjnego w 2015 r.
* Dyplom PTT dla zespołu w składzie Hanna Zielińska, Grażyna Moszkowska, Maciej Zieliński, Joanna Dębska-Zielkowska, Anna Dukat-Mazurek, Piotr Trzonkowski, Alicja Dębska-Ślizień za publikację „Ocena populacyjna lityczności przeciwciał anty-HLA C1q u biorców zgłoszonych do przeszczepienia nerki w rejonie pomorskim" – Warszawa 15 października 2021, XV Międzynarodowy Kongres Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego

16 Analiza bibliometryczna (05.10.2021)

Przed doktoratem: 7 prac, bez punktacji IF i MEiN, 5 streszczeń ze zjazdów krajowych
Po doktoracie: 57 prac, w tym 33 prace oryginalne, 2 prace kazuistyczne, 9 prac poglądowych, 13 w monografiach i podręcznikach. Streszczeń zjazdowych 81, w tym 37 ze zjazdów zagranicznych i 44 ze zjazdów krajowych

* Sumaryczna wartość Impact Factor = 52,087
* Sumaryczna wartość punktów MEiN = 706
* Liczba cytowań według: Web of Science = 231, bez autocytowań = 209; Scopus = 303, bez autocytowań= 284
* Indeks Hirscha według: Web of Science = 8, Scopus = 8

Oświadczam, że nie ubiegałam się dotychczas o nadanie stopnia doktora habilitowanego.