

Autoreferat  
Anna Szmigielska-Kapłon  
Grudzień 2014

## 1. Życorys i przebieg pracy zawodowej

W roku 1991 zaczęłam studia na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Łodzi, dyplom lekarza uzyskałam 24.06.1997r. W trakcie studiów rozpoczęłam pracę naukową w Klinice Hematologii, którą następnie kontynuowałam w ramach Indywidualnego Toku Studiów. Po zakończeniu stażu podyplomowego w 1998r zostałam słuchaczką Stacjonarnego Studium Doktoranckiego w Akademii Medycznej w Łodzi. Jednocześnie rozpoczęłam staż specjalizacyjny w Klinice Hematologii mieszczącej się w Specjalistycznym Szpitalu im Kopernika w Łodzi. W kwietniu 2002 roku uzyskałam z wyróżnieniem tytuł doktora nauk medycznych po obronie pracy doktorskiej pod tytułem „Interakcje 2-chlorodeoksyadenozyny z antybiotykami antracyklinowymi w badaniach *in vivo* i *in vitro*”. Od 01.05.2002 zostałam zatrudniona w Klinice Hematologii na stanowisku asystenta, a następnie adiunkta. W listopadzie 2004 roku uzyskałam tytuł specjalisty w zakresie chorób wewnętrznych, a następnie w 2008r tytuł specjalisty w dziedzinie hematologii. Od 2007 r weszłam w skład zespołu zajmującego się w Klinice Hematologii UM w Łodzi przeszczepianiem szpiku. Jestem w trakcie specjalizacji z transplantologii klinicznej. Wchodzę w skład szpitalnego Komitetu Transfuzjologicznego i Komitetu d/s. Zakażeń. Poza problematyką przeszczepiania szpiku, do kręgu moich zainteresowań naukowych należą zespoły mielodysplastyczne a także zespoły limfoproliferacyjne, w szczególności ostra białaczka limfoblastyczna. W Klinice Hematologii UM w Łodzi biorę udział w

- kwalifikacji pacjentów do allogenicznego oraz autologicznego przeszczepienia szpiku
- kwalifikacji dawców rodzinnych do oddania komórek krwiotwórczych
- pobieraniu komórek krwiotwórczych oraz ich przeszczepianiu
- prowadzeniu pacjentów po transplantacji w ramach oddziału przeszczepowego jak również w warunkach ambulatoryjnych
- jestem odpowiedzialna za gospodarkę preparatami krwi w Klinice Hematologii
- leczeniu chorych z nowotworami układu krwiotwórczego oraz z nienowotworowymi chorobami hematologicznymi

## 2. Wykaz posiadanych dyplomów i stopni naukowych

- 1997r - dyplom ukończenia studiów na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Łodzi

- 2000r - dyplom specjalisty I<sup>0</sup> z chorób wewnętrznych
- 2002r - tytuł doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy pt „Interakcje 2-chlorodeoksyadenozyny z antybiotykami antracyklinowymi w badaniach *in vivo* i *in vitro*”
- 2004r - dyplom specjalisty II<sup>0</sup> z chorób wewnętrznych
- 2008r - dyplom specjalisty z hematologii

### 3. informacje o dotychczasowym zatrudnieniu

3.1 Katedra i Klinika Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi od 2002 r do chwili obecnej

3.2 Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im Kopernika w Łodzi od 1997r do chwili obecnej

4. Osiągnięcie wynikające z art 16 ust 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki ( Dz. U nr 65, poz 595)

Tytuł osiągnięcia naukowego **Wpływ mikrośrodowiska szpiku na proces mobilizacji macierzystych komórek krwiotwórczych**

Na podstawie cyklu prac :

1. **Anna Szmigielska-Kapłon**, Janusz Szemraj, Katarzyna Hamara, Marta Robak, Anna Wolska, Agnieszka Pluta, Magdalena Czemerska, Anna Krawczyńska , Krzysztof Jamroziak, Katarzyna Szmigielska, Tadeusz Robak, Agnieszka Wierzbowska. Polymorphism of CD44 influences the efficacy of CD 34+cells mobilization in patients with hematological malignancies.: Biol Blood Marrow Transplant 2014 Mar 27. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.03.019.

Wskaźnik Impact Factor : 3,348

Punktacja Min Nauki: 30

2. **Anna Szmigielska-Kapłon**, Anna Krawczyńska, Magdalena Czemerska, Agnieszka Pluta, Barbara Cebula-Obrzut, Marta Robak, Olga Grzybowska-Izydorczyk, Katarzyna Szmigielska, Tadeusz Robak, Agnieszka Wierzbowska. The kinetics of hematopoietic niche cytokines and their influence on mobilization efficacy and timing

in patients with hematological malignancies. *Journal of Clinical Apheresis* 2014, doi: 10.1002/jca.21369

Wskaźnik Impact Factor 1,579

Punktacja Min. Nauki: 20.0

3. **Anna Szmigielska-Kapłon**, Anna Krawczyńska, Magdalena Czemerska, Agnieszka Pluta, Barbara Cebula-Obrzut, Katarzyna Szmigielska, Piotr Smolewski, Tadeusz Robak, Agnieszka Wierzbowska. Circulating endothelial cell kinetics and their potential predictive value during mobilization procedure. *Journal of Clinical Apheresis* 2013 : Vol. 28, s. 341-348,

Wskaźnik Impact Factor 1,579

Punktacja Min. Nauki: 20.0

4. **Anna Szmigielska-Kapłon**, Anna Krawczyńska, Magdalena Czemerska, Agnieszka Pluta, Barbara Cebula-Obrzut, Katarzyna Szmigielska, Konrad Stępka, Piotr Smolewski, Tadeusz Robak, Agnieszka Wierzbowska. Angiopoietins in hematopoietic stem cell mobilisation in patients with hematological malignancies. *Blood Transfusion* 2014, doi: 10.2450/2014.0002-14.

Wskaźnik Impact Factor 1,9

Punktacja Min. Nauki: 20.0

Sumaryczny Impact Factor wg Journal Citation Report : 8,4

Wstępne wyniki powyższych prac prezentowano na zjazdach: American Society of Hematology (ASH), European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) oraz European Hematology Association (EHA)

Omówienie celu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

## Wykaz skrótów

ANG1 - angioepoetyna 1

ANG 2 -angioepoetyna 2

CEC- krążące komórki śródbłonna, (circulating endothelial cells)

G-CSF – czynnik stymulujący wzrost kolonii granulocytarnych (granulocyte-colony stimulating factor)

HCELL - Hematopoietic Cell E/L selectin Ligand

HSC- komórki hematopetyczne- (hematopoietic stem cells)

MMP-9 – metaloproteinaza 9

OPN-osteopontyna

CXCL12 -SDF-1-stromal derived factor-1

VCAM-1 Vascular Cell Adhesion Molecule -1

VEGF- vascular endothelial growth factor

VLA4 - very late antigen 4

Tematem mojej pracy jest wpływ mikrośrodowiska szpiku kostnego na skuteczność procesów mobilizacji macierzystych komórek hematopoetycznych. Obecnie materiałem przeszczepianym w większości wykonywanych w Polsce i na świecie transplantacji komórek macierzystych nie jest szpik, lecz komórki prekursorowe hematopoezy uzyskane ze krwi obwodowej. Pobranie komórek ze krwi metodą aferezy jest możliwe po przeprowadzeniu procedury mobilizacji. U osób zdrowych komórki pobiera się po stymulacji za pomocą rekombinowanego czynnika wzrostu granulocytów (granulocyte – colony stimulating factor, G-CSF). U pacjentów z chorobami nowotworowymi układu krwiotwórczego do mobilizacji komórek CD34+ stosuje się G-SCF w monoterapii lub w połączeniu z chemioterapią. Mechanizm obu rodzajów mobilizacji nie jest jasny. Przechodzenie komórek ze szpiku do krwi obwodowej to skomplikowany proces kontrolowany przez różne czynniki. Wielokierunkowe interakcje pomiędzy komórkami mikrośrodowiska szpiku w sposób złożony regulują procesy mobilizacji i mogą wpływać na jej skuteczność.

## Hematopoeza

Hematopoeza to złożony proces, który odbywa się w mikrośrodowisku szpiku kostnego w tak zwanej niszy hematopoetycznej. Integryny, selektyny, kadheryny i ich ligandy tworzą skomplikowaną sieć współdziałającą dla utrzymania odpowiedniej funkcji komórek

progenitorowych hematopoezy w ciągu całego życia. Interakcje te są również niezbędne dla przebiegu mobilizacji komórek hematopoetycznych ze szpiku do krwi obwodowej oraz dla procesu zasiedlania nisz szpikowych po transplantacji komórek macierzystych (ang 'homing'). Stromal cell-derived factor 1 (SDF1/CXCL12) to chemokina wydzielana przez komórki zrębu szpiku kostnego, która reaguje z receptorem CXCR4 obecnym na komórkach hematopoetycznych. Interakcje pomiędzy SDF1 i CXCR4 odgrywają kluczową rolę w rozwoju hematopoezy, a także regulują przebieg mobilizacji czyli opuszczenia nisz szpikowych przez komórki macierzyste hematopoezy po zastosowaniu chemoterapii i G-CSF. Obecność zwiększonej ilości komórek CD34+ we krwi obwodowej umożliwia ich separację do celów transplantacji. Nie u wszystkich pacjentów udaje się osiągnąć odpowiednią liczbę komórek we krwi, umożliwiającą ich kolekcjonowanie. Tę grupę pacjentów określa się mianem 'słabych mobilizerów' (ang 'poor mobilizers'). Również wśród pacjentów osiągających minimalną ilość komórek macierzystych we krwi przebieg procesu zbierania komórek, to jest aferezy, jest zróżnicowany. U części chorych udaje się zebrać dostateczną ilość komórek nawet na kilka transplantacji za pomocą jednej procedury, natomiast u innych dla zabezpieczenia materiału na jeden przeszczep niezbędne jest kilka aferez, a nawet powtarzanie całej procedury mobilizacji. Pośród czynników związanych z adekwatną mobilizacją komórek macierzystych hematopoezy wymienić należy, przede wszystkim chorobę podstawową, liczbę cykli wcześniejszego leczenia oraz wiek. Polimorfizm genu SDF1 w pozycji 801 (zamiana G-A) koreluje ze skutecznością i efektywnością mobilizacji komórek macierzystych. Osoby z allelem A są grupą o lepszej zdolności mobilizacyjnej. Oś SDF1/CXCR4 jest dobrym celem kolejnych badań dotyczących skuteczności mobilizacji i transplantacji komórek do przeszczepu. Na rozwój i funkcjonowanie hematopoezy mają również wpływ procesy tworzenia naczyń, czyli angiogenezy, co jeszcze bardziej komplikuje interakcje pomiędzy komórkami tworzącymi niszę hematopoetyczną. W chorobach nowotworowych komórki endotelialne biorą udział w rozwoju i progresji procesu rozrostowego, mają jednocześnie wpływ na regenerację hematopoezy po chemioterapii.

## Angiogeneza

Angiogeneza to skomplikowany proces prowadzący do powstawania nowych naczyń krwionośnych. Ma ona przebieg wielostopniowy, obejmuje proliferację oraz różnicowanie komórek endotelialnych. Tworzenie naczyń mikrokrążenia i ich dalszy rozwój są niezbędne

dla prawidłowej regeneracji tkanki po jej uszkodzeniu np. przez niedokrwienie. Angiogeneza bierze również wiodący udział w progresji i rozsiewie choroby nowotworowej. Procesy tworzenia naczyń można oceniać poprzez analizę cytokin pro- i antyangiogennych. Inną metodą badania angiogenezy jest ocena krążących komórek śródbłonka (circulating endothelial cells, CEC). Zarówno w guzach litych jak i chorobach rozrostowych układu krwiotwórczego CEC są głównie traktowane jako nieinwazyjne markery aktywności komórek endotelialnych o znaczeniu prognostycznym. W onkologii angiogeneza jest analizowana przede wszystkim pod kątem wpływu na przebieg i progresję choroby podstawowej. Zupełnie innym aspektem jest ocena angiogenezy w kontekście wpływu na regenerację hematopoezy po uszkodzeniu spowodowanym chemioterapią.

Celem mojego projektu była kompleksowa analiza krążących komórek śródbłonka (CEC) oraz cytokin biorących udział w aktywacji i regulacji angiogenezy oraz hematopoezy w odniesieniu do przebiegu procesu mobilizacji komórek macierzystych. Zaplanowałam przeprowadzenie oceny stężenia różnych cytokin aktywnych w niszy hematopoetycznej regulujących angiogenezę, rozwój i funkcje prekursorowych komórek hematopoezy. Ponadto chciałam ocenić polimorfizmy genów kodujących białka o kluczowym znaczeniu dla przebiegu procesów hematopoezy, w tym VCAM-1, CXCR4 oraz CD44. W badaniach angiogenezy wzięłam pod uwagę ocenę CEC wraz z ich subpopulacjami i kinetyką oraz ocenę poziomu cytokin we krwi obwodowej u pacjentów w trakcie mobilizacji komórek macierzystych do przeszczepienia autologicznego. Próbkę były pobierane w kilku punktach czasowych w trakcie procedury. Liczbę CEC określałam za pomocą 4 – kolorowej cytometrii przepływową, poziom cytokin we krwi obwodowej oceniłam przy zastosowaniu metody ELISA, polimorfizm genów przy użyciu PCR. Następnie przeprowadziłam korelację badanych parametrów z dotychczas uznanymi czynnikami prognostycznymi oraz skutecznością procesu mobilizacji.

Znalezienie powyższych korelacji może pozwolić na opracowanie nowych standardów postępowania w procesie mobilizacji komórek macierzystych. Ocena mechanizmów regulacji angiogenezy i hematopoezy może mieć wymiar praktyczny. Zaplanowane badania miały również na celu ocenę wartości prognostycznej badanych parametrów laboratoryjnych. Ze względu na złożoność procesu angiogenezy i hematopoezy i ich wzajemne relacje, niezbędna

jest kompleksowa analiza panelu biorących w nich udział genów oraz białek pełniących funkcje cytokin i ich receptorów.

Zaplanowałam włączenie do badania pacjentów otrzymujących chemioterapię z mobilizacją komórek macierzystych do autologicznego przeszczepienia w Klinice Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Procedury mobilizacji obejmowały chemioterapię a następnie G-CSF w dawce 10µg/kg dziennie.

### **Wstęp do publikacji nr 1 i 2**

Nisza hematopoetyczna zawiera różne komórki, w tym makrofagi, osteoblasty, komórki mezenchymalne i endotelialne. Wszystkie one podlegają wzajemnym interakcjom i tworzą unikalne mikrośrodowisko niezbędne do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania hematopoezy. Część osteoblastyczna niszy jest odpowiedzialna za utrzymywanie w spoczynku komórek macierzystych hematopoezy (hematopoietic stem cells, HSC), podczas gdy ulegające podziałom, aktywne HSC są zlokalizowane w pobliżu komórek endotelialnych w części nacyniowej niszy hematopoetycznej. Podścielisko szpiku kostny bierze również udział w mobilizacji komórek HSC do krwi obwodowej. Dokładny mechanizm tego procesu nie jest wyjaśniony. Zaakceptowana obecnie teoria tłumaczy mobilizację poprzez zależne od G-CSF uwolnienie enzymów proteolitycznych, w tym metaloproteinaz, z granulocytów co prowadzi do głębokich zmian w mikrośrodowisku szpiku.

### **Publikacja nr 1**

Oś CXCL12/CXCR4 gra najważniejszą rolę w mobilizacji do krwi neutrofilii i innych komórek z linii mieloidalnej, a także HSC. Polimorfizm polegający na zamianie jednego nukleotydu w genie CXCL12 - CXCL12-801A jest związany z wyższą ilością komórek CD34+ po zastosowaniu mobilizacji G-CSF u pacjentów z chorobami układu krwiotwórczego. Dane dotyczące wpływu polimorfizmu CXCL12-801A na efektywność mobilizacji u osób zdrowych są sprzeczne. Wpływ innych polimorfizmów na skuteczność mobilizacji u pacjentów z chorobami hematologicznymi nie był do tej pory badany. Podczas mobilizacji HSC za pomocą G-CSF odnotowano spadek ekspresji antygenu CD44. Jest to powierzchniowy receptor, który wiąże różne ligandy, w tym kwas hialuronowy oraz osteopontynę. Molekuły adhezyjne, odpowiedzialne za interakcje pomiędzy komórkami oraz



między komórkami a podścieliskiem modulują rozwój HSC w niszy szpikowej. Vascular Cell Adhesion Molecule -1 (VCAM-1) ulega ekspresji na osteoblastach oraz komórkach zrębu szpiku i reaguje z antygenem VLA4 (very late antigen 4) obecnym na HSC. Rozzerwanie wiązania VLA4/VCAM1 powoduje mobilizację ludzkich HSC .

Celem pracy była ocena polimorfizmu kilku genów kodujących cytokiny i receptory obecne w niszy hematopoetycznej: CXCR4, CD44 i VCAM-1 oraz określenie wpływu polimorfizmu na skuteczność mobilizacji komórek macierzystych hematopoezy u pacjentów kwalifikowanych do autologicznej transplantacji. Zgodnie z moją wiedzą, wpływ polimorfizmu genów dla VCAM-1, CD44 i CXCR4 na efekty mobilizacji u pacjentów z chorobami rozrostowymi krwi nie był do tej pory badany.

W badaniu wzięło udział 110 chorych, 60 kobiet oraz 50 mężczyzn. Mediana wieku wynosiła 55 lat. W skład grupy badanej wchodziło 74 pacjentów ze szpiczakiem mnogim, 19 z chłoniakiem nieziarniczym, 15 z chłoniakiem Hodgkin oraz 2 z ostrą białaczką szpikową. Stu ośmiu chorych osiągnęło minimalną ilość komórek do rozpoczęcia kolekcjonowania ( $CD34+ 10/\mu l$ ) i miało wykonane procedury aferezy. Piętnastu pacjentów spełniło kryteria dla 'słabych mobilizerów' (ang 'poor mobilizer'). Grupa 'słabych mobilizerów' była zdefiniowana zgodnie z kryteriami GITMO : pacjenci z maksymalną liczbą komórek  $CD34+$  we krwi obwodowej  $< 20/\mu L$  lub całkowitą liczbą zebranych komórek  $CD34+ < 2 \times 10^6 CD34+/kg$  przy zastosowaniu maksimum 3 aferez.

## **Wyniki**

### *Polimorfizm CD44*

Mediana (Me) ekspresji CD44 mRNA w badanej grupie wynosiła 0.24 (zakres 0.08-0.68). Genotyp homozygotyczny TT skutkował zwiększoną ekspresją mRNA : Me=0.52 w porównaniu z osobami posiadającymi allel C (Me=0.27 w przypadku CC oraz Me=0.15 w genotypie CT,  $p < 0.001$ ). Ekspresja CD44 mRNA silnie korelowała z gorszą mobilizacją (  $R = -0.2$ ,  $p = 0.018$ ).

Grupa 'słabych mobilizerów' miała większą częstość genotypu TT w genie CD44 (CC+ CT vs TT  $p = 0.047$ ). Różnica ta była jeszcze bardziej wyrażona u pacjentów ze szpiczakiem mnogim (N=72,  $p = 0.027$ ). U pacjentów z genotypem TT zebrano mniej komórek macierzystych w czasie pierwszej aferezy ( $0.95 \times 10^6/kg$  vs.  $3.3 \times 10^6/kg$ ,  $p = 0.04$ ) mieli oni również niższą całkowitą liczbę zebranych komórek w trakcie kilku aferez niż grupa z

obecnością allelu C ( $Me=3.7 \times 10^6/kg$  vs.  $5.8 \times 10^6/kg$ ,  $p=0.019$ ). Obecność genotypu TT korelowała z niższą całkowitą liczbą zebranych komórek CD34+ ( $R=0.3$   $p=0.01$ ), niższą liczbą komórek CD34+ skolekcjonowanych w czasie jednej aferezy ( $R=0.2$ ,  $p=0.04$ ) oraz z przynależnością do grupy ‘słabych mobilizerów’ ( $R=0.23$ ,  $p=0.02$ ). W wielowariantowej regresji logistycznej uwzględniającej wiek, płeć, rozpoznanie (szpiczak mnogi vs. inne choroby), liczbę wcześniejszych linii leczenia oraz polimorfizm CD44 (TT vs CT+CC) wykazano, że genotyp TT był niezależnym czynnikiem związanym z 5-krotnie zwiększonym ryzykiem słabej mobilizacji ( $p=0.037$ ).

Polimorfizm genów CXCR4 oraz VCAM-1 nie miał wpływu na skuteczność mobilizacji w badanej grupie pacjentów.

## **Dyskusja**

Ocena skuteczności mobilizacji HSC zarówno wśród osób zdrowych jak i pacjentów z chorobami rozrostowymi jest przedmiotem wielu publikacji. Jednak nadal nie zdefiniowano dobrych czynników pozwalających przewidzieć efektywności mobilizacji.

Zgodnie z moją wiedzą wpływ polimorfizmu genów dla CD44, VCAM1 oraz CXCR4 nie był do tej pory oceniany w kontekście skuteczności mobilizacji u pacjentów przygotowywanych do autologicznej transplantacji HSC. W badanej grupie pacjentów zaobserwowałam wyższą częstość genotypu TT genu CD44 (rs13347) w grupie ‘słabych mobilizerów’. Różnica ta była jeszcze wyraźniejsza u pacjentów ze szpiczakiem mnogim. W homozygotycznym genotypie TT (rs13347) obserwowano wyższą ekspresję CD44 mRNA w czasie aferezy w porównaniu z osobami, u których stwierdzono obecność allelu C. Pacjenci homozygotyczni pod względem allelu T mieli niższą całkowitą liczbę zebranych komórek HSC/kg wagi ciała, jak również niższą liczbę komórek zebranych w czasie pierwszej aferezy niż osoby z obecnością allelu C. W badanej grupie pacjentów stwierdziłam wyższą ekspresję CD44 mRNA w przypadku genotypu TT, co może wynikać z różnic w kinetyce mRNA w trakcie mobilizacji w polimorficznych wariantach CD44. Uzyskane przeze mnie wyniki dotyczące wpływu polimorfizmu CD44 na skuteczność mobilizacji u pacjentów z chorobami nowotworowymi układu krwiotwórczego są zbieżne z wcześniejszymi obserwacjami dotyczącymi zdrowych dawców. Wyższa ekspresja CD44 w przypadku genotypu TT może tłumaczyć niższy potencjał mobilizacyjny tej grupy pacjentów. Lokalizacja polimorfizmu regionie 3’UTR genu CD44 może potencjalnie prowadzić do zmiany zdolności przyłączania różnych mikroRNA pomiędzy 2 różnymi formami polimorficznymi. MikroRNA to krótkie, niekodujące

fragmenty RNA, które mogą powodować zahamowanie procesu translacji, grają więc kluczową rolę w regulacji ekspresji genów.

Skomplikowana sieć wzajemny zależności pomiędzy różnymi cząsteczkami bierze udział w utrzymaniu HSC w spoczynku a także ma olbrzymie znaczenie w procesie mobilizacji. CD44 to receptor glikoproteinowy o różnorodnych funkcjach, który może się wiązać z wieloma ligandami, w tym z kwasem hialuronowym i osteopontyną (OPN). W trakcie mobilizacji powodowanej przez G-CSF dochodzi do degranulacji neutrofilów, co prowadzi do zwiększonej aktywności metaloproteinaz w podścielisku szpiku, a w konsekwencji do fragmentacji CD44. OPN jest czynnikiem przeżycia dla wielu tkanek, z drugiej strony hamuje proliferację HSC, bierze również udział w migracji i prawidłowej lokalizacji HSC w szpiku kostnym po transplantacji. Dodatkowo OPN kontroluje także angiogenezę, nasila migrację i hamuje apoptozę komórek endotelium. Angiogeneza jest niezbędna do naprawy tkanek po uszkodzeniu spowodowanym chemioterapią, w tym bardzo wrażliwych komórek hematopoezy. Oddziaływanie na angiogenezę może tłumaczyć wpływ polimorfizmu CD44 na skuteczność mobilizacji poprzez oś CD44/OPN. Jedną z funkcji CD44 jest tworzenie Hematopoietic Cell E/L selectin Ligand (HCELL). HCELL to wariant CD44, który stanowi najbardziej aktywny ligand E- i L-selektyn na ludzkich komórkach hematopoetycznych. Interakcje CD44/OPN, CD44/kwas hialuronowy jak również HCELL/selektyny biorą udział w mobilizacji HSC, a polimorficzne warianty genu CD44 mają różnorodny i wielokierunkowy wpływ na skomplikowaną sieć mechanizmów regulujących hematopoezę.

**Wnioski :** Spośród zbadanych przeze mnie polimorfizmów jednonukleotydowych jedynie CD44 rs13347 ma wpływ na skuteczność procesu mobilizacji u pacjentów z rozrostowymi chorobami hematologicznymi. Ponadto analiza polimorfizmu CD44 może być pomocna w przewidywaniu niskiego potencjału mobilizacyjnego pacjenta.

## **Publikacja nr 2**

Złożone interakcje cytokin i cząsteczek adhezyjnych są głównymi mechanizmami regulatorowymi hematopoezy, biorą również kluczowy udział w procesie mobilizacji HSC. Migracja komórek hematopoetycznych ze szpiku do krwi obwodowej, indukowana przez G-CSF, rozpoczyna się od uwolnienia enzymów proteolitycznych neutrofilów, co w konsekwencji prowadzi do rozerwania kompleksu SDF/CXCR4. Cytokiny niszy hematopoetycznej nie były

do tej pory oceniane u pacjentów poddawanych procedurze mobilizacji w kontekście efektywności procesu.

Celem pracy była ocena poziomu cytokin: VCAM-1, VEGF (vascular endothelial growth factor), MMP-9 (metalloproteinase 9) oraz SDF podczas mobilizacji komórek CD34+ u pacjentów z nowotworami układu krwiotwórczego .

Trzydziestu czterech pacjentów, 19 kobiet i 15 mężczyzn (mediana wieku 57 lat) zostało włączonych do badania. Grupa składała się z 26 pacjentów ze szpiczakiem mnogim oraz 8 z chłoniakiem . Wszyscy pacjenci osiągnęli minimalną liczbę komórek (CD34+10/ $\mu$ l) we krwi obwodowej i mieli wykonywane aferezy. U wszystkich chorych pobrano krew do oceny cytokin przed rozpoczęciem chemioterapii. Dodatkowo u 26 pacjentów próbki zostały pobrane w dniu pierwszej aferezy (gdy liczba CD 34+ wynosiła co najmniej 10/ $\mu$ l). Stężenie cytokin VEGF, VCAM-1, MMP-9 oraz SDF były ocenione metodą ELISA przy użyciu komercyjnie dostępnych zestawów kitów (Quantikine, R&D systems)

## **Wyniki**

Zaobserwowałam wzrost stężenia VCAM-1 w trakcie mobilizacji. Stężenia VEGF i SDF obniżyły się w trakcie trwania procedury, podczas gdy stężenie MMP-9 był stabilny.

W zależności od stężenia początkowego cytokin powyżej i poniżej mediany, pacjenci zostali podzieleni na grupę o 'niskiej' i 'wysokiej ekspresji' (ang 'low' i 'high' expressors). Spośród wyjściowych poziomów cytokin, jedynie poziom VEGF miał wpływ na skuteczność mobilizacji. Grupa o 'niskiej ekspresji' VEGF miała dłuższą medianę czasu stosowania G-CSF przed pierwszą aferezą niż grupa o 'wysokiej ekspresji' (12vs10 dni,  $p=0.01$ ). Dodatkowo zaobserwowałam, że maksymalna liczba komórek CD34+ we krwi występowała później w grupie o 'niskiej ekspresji' VEGF (Me=13 dni) niż w przypadku 'wysokiej ekspresji' VEGF (Me=10.5 dni,  $p=0.01$ ). Wyjściowy poziom VEGF odwrotnie korelował z długością trwania leczenia G-CSF przed rozpoczęciem pierwszej aferezy ( $R=-0.5$ ,  $P=0.002$ ) oraz z dniem gdy poziom komórek CD34+ osiągał maksimum ( $R=-0.53$ ,  $p=0.001$ ).

Pacjenci zostali również podzieleni biorąc pod uwagę stężenie cytokin (poniżej i powyżej mediany) z dnia pierwszej aferezy na grupy o 'niskiej' i 'wysokiej ekspresji'. Grupa o 'wysokiej ekspresji' VCAM-1 osiągnęła wyższą liczbę komórek CD34+ we krwi niż pacjenci o 'niskiej ekspresji' (Me=124 vs 51,  $p=0.003$ ) oraz zebrała większą ilość komórek

CD34+/kg wagi ciała w czasie pierwszej aferezy ( $Me=7.1 \times 10^6/kg$ ) niż grupa o 'niskiej ekspresji' ( $Me=2.6 \times 10^6/kg$ ,  $p=0.006$ ). Dodatkowo poziomy VCAM-1 stwierdzane w momencie pierwszej aferezy korelowały z liczbą komórek CD34+ we krwi obwodowej ( $R=0.59$ ,  $p=0.001$ ) oraz z liczbą komórek zebranych tego dnia ( $R=0.43$ ,  $p=0.02$ ).

## Dyskusja

W badanej grupie pacjentów stężenie VEGF i SDF we krwi obwodowej było niższe w momencie aferezy w porównaniu z poziomem wyjściowym, podczas gdy poziom VCAM-1 wzrósł podczas procedury mobilizacji. Według mojej wiedzy zmiany poziomu tych cytokin w trakcie procedury mobilizacji za pomocą chemioterapii i G-CSF nie były do tej pory badane. VEGF odgrywa kluczową rolę w złożonych procesach angiogennych w chorobach nowotworowych, brak jednak danych na temat poziomu tej cytokiny w trakcie mobilizacji u chorych z chorobami rozrostowymi krwi. Stężenie VEGF było wcześniej oceniane w czasie mobilizacji HSC u zdrowych dawców przez kilku autorów. Niestety, różnice w czasie pobierania próbek uniemożliwiają porównanie naszych wyników z badaniami przeprowadzonymi u osób zdrowych.

Ważnym problemem w praktyce klinicznej jest wpływ różnych czynników, na czas w którym mobilizacja jest najskuteczniejsza (ang 'timing'). Potencjalny wpływ cytokin aktywnych w niszy hematopoetycznej na skuteczność oraz 'timing' mobilizacji u pacjentów z hematologicznymi chorobami rozrostowymi również nie były oceniane. W mojej pracy stwierdziłam, że wyższy wyjściowy poziom VEGF koreluje z krótszym czasem stosowania G-CSF, niezbędnym do skutecznego mobilizacji HSC.

Zaobserwowałam wyższą liczbę komórek CD34+ we krwi oraz większą liczbę skolekcjonowanych komórek w przypadku wyższego stężenia VCAM-1 w dniu pierwszej aferezy. Większość badań przeprowadzonych w trakcie mobilizacji komórek u zdrowych dawców oceniało kinetykę cytokin, a nie ich wpływ na skuteczność procedury. Ocena cytokin aktywnych w procesie mobilizacji HSC do krwi obwodowej to metoda o niezbyt wysokich kosztach, dostępna w standardowym ośrodku pobierającym komórki metodą aferezy. Może ona pozwolić na zoptymalizowanie skuteczności procedur kolekcjonowania komórek macierzystych.

**Wnioski:** Poziom cytokin niszy hematopoetycznej zmienia się znacząco w trakcie mobilizacji u pacjentów z chorobami rozrostowymi krwi. Wyjściowy poziom VEGF może wpływać na czas stosowania G-CSF niezbędny do skutecznej mobilizacji. Wyższe stężenie VCAM-1 koreluje z wyższą skutecznością mobilizacji.

### **Publikacja nr 3**

Naczyniowa część niszy hematopoetycznej odgrywa ważną rolę w procesie mobilizacji HSC do krwi obwodowej. Krążące komórki śródbłonna (CEC) oraz ich subpopulacje są nieinwazyjnymi markerami angiogenezy, a ich liczba koresponduje z funkcją komórek śródbłonna naczyń w szpiku. CEC były oceniane w różnych rozrostowych chorobach hematologicznych w kontekście zaawansowania choroby, progresji i odpowiedzi na leczenie. Interesującym aspektem jest potencjalny wpływ angiogenezy na przebieg procesu mobilizacji HSC do krwi obwodowej. Zgodnie z moją wiedzą CEC oraz ich subpopulacje nie były do tej pory oceniane podczas mobilizacji w kontekście skuteczności procedury.

Celem badania była ocena aktywności CEC oraz ich podtypów, kinetyki oraz wartości predykcyjnej w procesie mobilizacji komórek macierzystych hematopoetycy u pacjentów z chorobami hematologicznymi.

Trzydziestu ośmiu pacjentów (19 kobiet i 19 mężczyzn) zostało włączonych do badania. Mediana wieku wynosiła 56.5 roku. W skład grupy weszli pacjenci ze szpiczakiem mnogim (26), chłoniakami nieziarniczymi (4), chłoniakiem Hodgkina (6) oraz ostrą białaczką szpikową (2). Grupa 35 pacjentów osiągnęła minimalną liczbę komórek CD34+ niezbędną do rozpoczęcia kolekcjonowania i u nich przeprowadzono aferezy. Tę grupę chorych poddano analizie dotyczącej skuteczności procedur kolekcjonowania. Analizowałam liczbę aferez niezbędną do otrzymania minimalnej liczby komórek CD34+ do transplantacji ( $2 \times 10^6$  CD34+ /kg) a także liczbę dni stosowania G-CSF przed rozpoczęciem aferez

#### *Ocena CEC*

Próbki krwi żyłnej pobierane były w kilku punktach czasowych: przed chemioterapią, 1 dzień po zakończeniu chemioterapii, w dniu rozpoczęcia G-CSF (G0), 1 dzień po pierwszej dawce G-CSF (G+1) oraz w dniu gdy liczba komórek CD 34+ wynosiła co najmniej  $10/\mu\text{l}$  – dzień pierwszej aferezy.

CEC były oceniane za pomocą czterokolorowej cytometrii przepływowej. Oceniałam następujące subpopulacje CEC : krążące komórki progenitorowe śródbłona (circulating progenitor cells, CEPC), apoptotyczne CEC (ApoCEC).

## **Wyniki.**

*1. Analiza CEC pod kątem ilości aferez niezbędnej do zebrania minimalnej liczby komórek do wykonania przeszczepu .*

Pacjenci zostali podzieleni biorąc pod uwagę liczbę aferez niezbędna do osiągnięcia minimalnej liczby komórek CD34+: ‘wysoc efektywni mobilizerzy’ (ang ‘highly efficient mobilizers’ - 1 afereza była wystarczająca do uzyskania minimum) oraz ‘mniej efektywni mobilizerzy’ (ang ‘poorly efficient mobilizers’ - 2 lub więcej aferez było niezbędnych do uzyskania minimum). Stwierdziłam, że mediana liczby apoptotycznych CEC (ApoCEC) oceniana w pierwszym dniu po rozpoczęciu G-CSF (G+1) była niższa w grupie ‘wysoc efektywnych mobilizerów’ (Me=3.1/ $\mu$ l) niż w grupie ‘mniej efektywnych mobilizerów’ (Me=5.1/ $\mu$ l, p=0.02). Niższe ApoCEC w dniu G+1 było związane z wyższą szansą zebrania minimalnej liczby komórek w trakcie jednej aferezy (odds ratio=0,34; p=0,03). W wielowariancyjnej analizie niższe ApoCEC w dniu G+1 oraz rozpoznanie szpiczaka mnogiego były niezależnymi czynnikami związanymi ze zwiększoną szansą na skuteczną mobilizację w trakcie jednej aferezy.

Dodatkowo stwierdzono korelację pomiędzy ApoCEC w dniu G+1 a liczba aferez niezbędnych do uzyskania minimalnej liczby komórek CD34+ do przeszczepienia (r=0.48, p=0.038).

*2. Analiza CEC pod kątem liczby dni leczenia G-CSF przed rozpoczęciem aferez*

Pacjenci zostali podzieleni na dwie grupy ‘wczesnych’ i ‘późnych mobilizerów’ biorąc pod uwagę liczbę dni stosowania G-CSF przed rozpoczęciem aferez (dni stosowania G-CSF): ‘wczesni mobilizerzy’ <Me = 11 dni, ‘późni mobilizerzy’ >Me. CEC i ich subpopulacje były oceniane w tych 2 grupach.

Wyjściowa liczba CEC była wyższa w grupie ‘wczesnych mobilizerów’ (Me 12.5/ $\mu$ l) niż w grupie ‘późnych mobilizerów’ (Me =9.9/ $\mu$ l, p=0.043). CEPC analizowane zarówno przed jak i po zastosowaniu pierwszej dawki G-CSF również różniły się w tych 2 grupach. Wyższa liczba CEPC została stwierdzona w dniu G0 (‘wczesni mobilizerzy’, Me=1.3/ $\mu$ l) niż w grupie ‘późnych mobilizerów’ (Me 0.8/ $\mu$ l, p=0.05). Liczba CEPC w dniu G+1 również była

wyższa w grupie ‘wczesnych mobilizerów’ ( $Me=1.5/\mu l$ ) niż w przypadku ‘późnych mobilizerów’ ( $Me=0.8/\mu l$ ,  $p = 0.01$ ).

Dodatkowo liczba CEPC w dniach G0 and G+1 odwrotnie korelowała z liczbą dni stosowania G-CSF (odpowiednio  $r= -0.42$ ,  $p=0.035$  and  $r= -0.49$ ,  $p=0.04$ ). Regresja logistyczna wykazała, że czynniki związane ze zwiększoną szansą wcześniejszej mobilizacji to CEPC w dniu G+1 (odds ratio=12, 95% CI 1,1-124,  $p=0.03$ ), CEPC w dniu G0 (odds ratio=5,2; 95% CI 0,9-30,  $p=0.05$ ) oraz CEC (odds ratio=0,8; 95% CI 0,7-1,1,  $p=0,05$ ). Niestety, po wykonaniu regresji wielowariantowej, żaden z tych czynników nie okazał się być niezależny .

## Dyskusja

W chorobach rozrostowych CEC są uważane głównie za markery masy guza nowotworowego. Odmienny problem stanowi określenie roli CEC w procesie mobilizacji HSC do krwi obwodowej. Oceniałam potencjalny wpływ predykcyjny CEC i ich subpopulacji w tym zakresie. Skuteczność mobilizacji określałam na kilka sposobów. Zaobserwowałam, że liczba CEC a także ich niektórych subpopulacji koreluje z czasem trwania terapii G-CSF koniecznym do rozpoczęcia kolekcjonowania oraz z liczbą aferez wymaganych do uzyskania minimalnej liczby CD34+ do przeprowadzenia transplantacji.

Większa ilość prekursorowych komórek śródbłonka, oceniana wcześniej po zakończeniu chemioterapii oraz po rozpoczęciu stosowania G-CSF korelowała z krótszym czasem stosowania G-CSF. Ponadto niższa liczba apoptotycznych CEC po rozpoczęciu stosowania G-CSF była związana z mniejszą liczbą aferez niezbędnych do uzyskania minimalnej liczby komórek CD34+ do transplantacji. Niższa liczba komórek apoptotycznych odzwierciedla lepsze zachowanie funkcji CEC i podkreśla rolę komórek endotelialnych w procesie efektywnej mobilizacji komórek CD34+. Moje wyniki sugerują, że procesy angiogenezy mogą wpływać na czas stosowania G-SCF niezbędny do mobilizacji HSC. Ocena CEC i jej subpopulacji apoptotycznej w trakcie mobilizacji ze względu na swoje predykcyjne znaczenie może poprawić skuteczność kolekcjonowania komórek. Obserwacje te wskazują na ważne znaczenie procesów angiogenezy w migracji HSC.

**Wnioski:** Moje wyniki wskazują na ważną rolę śródbłonka w procesach migracji i mobilizacji prekursorowych komórek hematopoetycznych. Liczba apoptotycznych komórek CEC, oceniana w momencie rozpoczęcia stosowania G-CSF pozwala przewidzieć skuteczność kolekcjonowania HSC. Liczba prekursorowych komórek endotelialnych oceniana wcześniej



po zakończeniu chemioterapii koreluje z czasem stosowania G-CSF niezbędnym do rozpoczęcia aferez. CEC oraz ich subpopulacje, jako nienwazyjne i niedrogie metody oceny angiogenezy, wymagają dalszych badań w kontekście skuteczności procedur mobilizacji.

#### **Publikacja nr 4**

Angiopoetyny 1 oraz 2 (Ang1 i Ang2) wywierają wpływ na różne etapy rozwoju komórek endotelialnych oraz odgrywają główną rolę w procesie nowotworowej angiogenezy. Obie cytokiny są ligandami dla specyficznego dla śródbłonka receptora Tie2. Oprócz funkcji czynnika przeżycia dla komórek śródbłonka, Ang1 ochrania HSC przed stresem komórkowym, przyczyniając się tym samym do utrzymywania HSC w stanie spoczynku w niszy hematopoetycznej szpiku. Ang2 promuje natomiast apoptozę komórek śródbłonka, funkcjonuje więc jako naturalny antagonist angiopoetyny 1. Osteopontyna (OPN), jest to czynnik przeżycia dla wielu tkanek o działaniu antyapoptotycznym. W niszy hematopoetycznej osteopontyna hamuje proliferację HSC i jest zaangażowana w kontrolę cyklu życiowego HSC. Cytokiny aktywne w mikrośrodkowisku szpiku regulują i kontrolują część naczyniową niszy hematopoetycznej, wpływają na rozwój i funkcjonowanie HSC. Poprzez wpływ na angiogenezę w okresie regeneracji po uszkodzeniu wywołanym przez cytostatyki cytokiny mogą regulować skuteczność mobilizacji HSC.

Celem badania była kompleksowa ocena Ang1, Ang2 oraz OPN w trakcie mobilizacji komórek CD34+ u chorych z nowotworami układu krwiotwórczego. Kolejnym celem była ocena związku pomiędzy stężeniem ocenianych cytokin a liczbą krążących komórek śródbłonka CEC. Zgodnie z moją wiedzą kinetyka Ang1, Ang2 i OPN podczas mobilizacji u pacjentów z chorobami rozrostowymi krwi nie były do tej pory oceniane.

Czterdziestu ośmiu pacjentów (24 kobiety i 24 mężczyzn) zostało włączonych do badania. Mediana wieku wynosiła 56.5 lat. Grupa składała się z 34 chorych na szpiczaka mnogiego, 7 z chłoniakiem nieziarnicznym, 6 z chłoniakiem Hodgkina oraz 1 z ostrą białaczką szpikową. Grupa 47 pacjentów osiągnęła minimalną ilość komórek do rozpoczęcia kolekcjonowania (CD34+ 10/ $\mu$ l) i miała wykonane procedury aferezy. Grupa 'słabych mobilizerów' była zdefiniowana zgodnie z kryteriami GITMO : pacjenci z maksymalną liczbą komórek CD34+ we krwi obwodowej < 20/ $\mu$ L lub całkowitą liczbą zebranych komórek CD34+ < 2x 10<sup>6</sup>

CD34+/kg przy zastosowaniu maksimum 3 aferez. Ośmiu z 48 (16.6%) pacjentów spełniło kryteria dla ‘słabych mobilizerów’.

U wszystkich chorych próbki krwi żyłnej były pobrane do oceny cytokin przed rozpoczęciem chemioterapii (grupa A). Dodatkowo u 36 pacjentów próbki pobrano w dniu pierwszej aferezy (gdy liczba CD 34+ we krwi obwodowej wynosiła co najmniej 10/ $\mu$ l). Grupa B obejmuje 36 pacjentów z grupy A, u których cytokiny oznaczono dwukrotnie oraz zbadano wyjściowo liczbę CEC. Poziom cytokin oceniano za pomocą metody ELISA. Komórki CEC oceniano za pomocą 4-kolorowej cytometrii przepływowej

## **Wyniki**

### *Stężenie cytokin i ich kinetyka*

Wyjściowe poziomy Ang1, Ang 2 i OPN wynosiły odpowiednio Me= 7.8 ng/ml, Me=2.8 ng/ml and 115 ng/ml. Obserwowano korelacje pomiędzy wyjściowymi poziomami OPN i Ang2 ( $r=0.35$ ,  $p=0.014$ ) a także pomiędzy Ang1 oraz CEC ( $r=0.34$ ,  $p=0.04$ ). Mediana stężenia Ang1 we krwi w momencie rozpoczęcia aferez była statystycznie niższa niż stężenie wyjściowe. (2.7 vs 7.8 ng/ml,  $p < 0.001$ ). Obserwowano wzrost stężenia Ang2 w trakcie mobilizacji (Me =3.6 vs 2.8 ng/ml,  $p=0.001$ ), podczas gdy poziom OPN w trakcie procedury nie zmienił się.

### *Stężenie cytokin a skuteczność mobilizacji*

Wyjściowe stężenie Ang2 w grupie ‘słabych mobilizerów’ było niższe (Me=1.9) niż w przypadku ‘dobrych mobilizerów’ (Me=3.3,  $p=0.006$ ). Stężenie OPN i Ang1 nie różniło się w grupach ‘słabych mobilizerów’ i ‘dobrych mobilizerów’. Analiza regresji wielowariantowej została przeprowadzona, aby wyłonić czynniki związane ze słabą mobilizacją. Wyjściowy poziom Ang2 poniżej mediany oraz rozpoznanie choroby innej niż szpiczak mnogi stanowiły czynniki predykcyjne dla złej mobilizacji w analizie jednowariantowej (odpowiednio odds ratio 0.1, 95% CI 0.01-0.9,  $p=0.04$  oraz odds ratio 0.17 (95%CI 0.03-0.9,  $p= 0.04$ ). Żaden z tych czynników nie okazał się być czynnikiem niezależnym, ale poziom Ang2 był ostatnim czynnikiem wykluczonym z analizy w wielowariantowej regresji logistycznej wstecznej.

### *Stężenie cytokin a długość stosowania G-CSF przed rozpoczęciem aferez*

Mediana liczby dni stosowania G-CSF przed rozpoczęciem aferez była podstawą podziału pacjentów na grupy ‘wczesnych’ oraz ‘późnych mobilizerów’. Wyższe stężenie wyjściowe Ang1 było stwierdzane w grupie ‘wczesnych mobilizerów’ (Me=11.6 ng/ml) niż w przypadku

‘późnych mobilizerów’ ( $Me=6.0$  ng/ml,  $p=0,046$ ). Stężenia Ang2 oraz OPN nie różniły się w grupach ‘wczesnych’ i ‘późnych mobilizerów’. Dodatkowo wyższe wyjściowe stężenie Ang1 korelowało z krótszym czasem stosowania G-CSF ( $r=-0.39$ ,  $p=0.006$ ). Stwierdzono również korelacje pomiędzy stężeniem Ang2 w dniu pierwszej aferezy a liczbą komórek CD34+ we krwi obwodowej w tym dniu ( $r=0.39$ ,  $p=0.03$ )

## Dyskusja

W badanej grupie pacjentów stężenie Ang1 zmniejszało się w czasie trwania mobilizacji w porównaniu do stanu wyjściowego, podczas gdy stężenie Ang2 wzrastało. Zgodnie z moją wiedzą zmiany stężenia angiopoetyn w trakcie procedury mobilizacji za pomocą chemioterapii i G-CSF nie były do tej pory oceniane. Czynniki angiogenne, takie jak angiopoetyny 1, 2 /Tie 2 oraz VEGF odgrywają ważną rolę w mobilizacji komórek CD34+ u zdrowych dawców. Angiogeneza bierze udział w procesach naprawy tkanek po uszkodzeniu spowodowanym chemioterapią. Wyniki moich badań wskazują na spadek Ang1 w czasie aferezy i jej korelacje z liczbą CEC. Ilość CEC koresponduje z funkcją komórek śródbłonna w szpiku kostnym. Korelacja pomiędzy wyjściowym stężeniem Ang1 a liczbą CEC podkreśla proangiogenne działania Ang1. Oba parametry, stężenie Ang1 oraz liczba CEC, wykazywały podobny trend - zmniejszyły się w czasie aferezy. Wyniki uzyskane przeze mnie wskazują na wspomagającą funkcję mikrokrążenia szpiku kostnego w procesie mobilizacji komórek CD34+ do krwi obwodowej.

W badaniu oceniano potencjalny predykcyjny znaczenie angiopoetyn w kontekście skuteczności mobilizacji HSC. Stwierdziłam, że poza rodzajem choroby, wyjściowy poziom Ang2 był czynnikiem ryzyka niepowodzenia mobilizacji. Pacjenci spełniający kryteria ‘słabych mobilizerów’ mieli niższy wyjściowy poziom Ang2 niż pozostali chorzy. Dodatkowo większa ilość komórek CD34+ we krwi obwodowej korespondowała z wyższym poziomem Ang2 w dniu aferezy. Wpływ angiopoetyn na skuteczność mobilizacji i optymalny czas kolekcjonowania nie były do tej pory oceniane. Badania wykonywane w trakcie mobilizacji u zdrowych dawców były ukierunkowane na kinetykę cytokin, nie był natomiast oceniany wpływ cytokin na wyniki mobilizacji. W naszym badaniu stwierdziliśmy, że wyższy wyjściowy poziom Ang1 korelował z krótszym czasem stosowania G-CSF.

**Wnioski:** Angiopoetyny odgrywają ważną rolę w procesie mobilizacji komórek macierzystych hematopoety do krwi obwodowej. Część naczyniowa niszy hematopoetycznej pełni funkcję wspomagającą w procesie mobilizacji HSC w odpowiedzi na różne czynniki, w tym chemioterapię i G-CSF. Wyjściowe poziomy angiopoetyny 1 mogą wpływać na optymalny czas kolekcjonowania HSC.

### **Podsumowanie badań**

Przeprowadzone przeze mnie badania miały na celu pogłębienie wiedzy na temat udziału mechanizmów regulujących procesy hematopoety i angiogenezy w przebiegu mobilizacji komórek CD34+. Mikrośrodowisko szpiku, w tym komórki śródbłonka, przyczynia się do prawidłowej funkcji komórek macierzystych hematopoety, oraz do ich regeneracji po uszkodzeniu spowodowanym chemioterapią. CD44 jako glikoproteina o różnorodnych funkcjach i licznych ligandach może wywierać wielokierunkowy wpływ na procesy mobilizacji. Mielosupresji wynikającej z działania cytostatyków towarzyszy uszkodzenie naczyń mikrokrążenia w szpiku, a ich naprawa odbywa się równolegle z regeneracją hematopoety. Czynniki angiogenne, przede wszystkim angiopoetyny 1, 2 oraz VEGF odgrywają ważną rolę w procesie mobilizacji komórek CD34+ do krwi obwodowej. Powyższe obserwacje wskazują na wspomagającą rolę mikrośrodowiska szpiku w migracji prekursorowych komórek hematopoety.

Wyodrębnienie dodatkowych czynników prognostycznych może przyczynić się do optymalizacji procedur stosowanych w podczas mobilizacji i separacji HSC. Kompleksowa ocena zagadnienia poprzez określenie roli poszczególnych współdziałających ze sobą w regulacji procesu hematopoety i angiogenezy białek i ich genów, może umożliwić dalsze zoptymalizowanie postępowanie u chorych kwalifikowanych do przeszczepu komórek macierzystych hematopoety.

Ocena komórek CEC za pomocą cytofluorymetrii przepływowowej oraz badanie poziomu cytokin metodą ELISA są łatwo dostępne, możliwe do wykonania jako badania rutynowe w dużych ośrodkach transplantacyjnych, przeprowadzających procedury u licznych dawców komórek autologicznych oraz allogenicznych. Wczesna identyfikacja chorego o słabym potencjale mobilizacyjnym może ułatwić kwalifikację pacjenta do rekomendowanej w takiej sytuacji terapii plerixaforem.

Analiza bibliometryczna dorobku naukowego przeprowadzona przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Medycznego w Łodzi :

Suma punktów MNiSW za publikacje naukowe w czasopismach (bez suplementów) wynosi 553,

- w tym 181 pkt przypada na pierwszoautorskie prace oryginalne i kazuistyczne;
- impact factor prac wynosi w sumie 62,509, w tym 19,008 przypada na pierwszoautorskie prace oryginalne.

W dorobku naukowym poza pracami przedstawionymi w ‘osiągnięciu naukowym’ posiadam 24 prac oryginalnych, 3 prace kazuistyczne oraz 8 prac poglądowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach polskich i zagranicznych. Jestem pierwszym autorem 12 z wyżej wymienionych prac

Punktacja wg list MNiSW oraz współczynnik impact factor (z wyłączeniem prac umieszczonych w dysertacji):

Prace oryginalne: MNiSW=345 pkt oraz IF=42,418

Prace kazuistyczne: MNiSW= 21 pkt oraz IF=2,498

Prace poglądowe: MNiSW=97 pkt oraz IF=9,186

### 5.1 Transplantacje autologiczne szpiku i mobilizacje

Od roku 2008 moje zainteresowania naukowe obejmują mobilizację i transplantację autologicznych komórek macierzystych hematopoezy. Postanowiłam zająć się przebiegiem angiogenezy we wczesnym okresie po autologicznej transplantacji komórek macierzystych hematopoezy. Jedną z pośrednich metod oceny angiogenezy jest oznaczanie krążących komórek śródbłonna (CEC). W grupie pacjentów poddanych procedurze autologicznej transplantacji komórek macierzystych zbadalam kinetykę i profil apoptotyczny CEC, a następnie oceniłam ich wpływ na proces wszczepienia. Wyniki opublikowano (**A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. The kinetics and apoptotic profile of circulating endothelial cells in autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with lymphoproliferative disorders. Ann. Hematol 2013).

Powikłania infekcyjne po autologicznej transplantacji komórek macierzystych nie są tak ciężkie jak po transplantacji allogenicznej. W Klinice Hematologii UM w Łodzi przeprowadzona była analiza skuteczności profilaktyki przeciwbakteryjnej ciprofloksacyną u pacjentów poddawanych autologicznemu przeszczepieniu komórek macierzystych

hematopoezy. Wyniki opublikowano (A. Wolska, T. Robak, **A. Szmigielska-Kapłon**, i wsp. Ciprofloxacin prophylaxis for patients undergoing high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation (ASCT) - a single-center experience. Adv. Med. Sci.2012).

Brałam również udział w ocenie skuteczności i bezpieczeństwa stosowania inhibitora receptora CXCR4 (G. Basak, W. Knopińska-Posłuszny, M. Matuszak, E. Kisiel, D. Hawrylecka, **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Hematopoietic stem cell mobilization with the reversible CXCR4 receptor inhibitor plerixafor (AMD 310) - Polish compassionate use experience. Ann. Hematol 2011).

5.2 Ocena interakcji 2-chlorodeoksyadenozyny a innymi chemioterapeutykami oraz lekami nie należącymi do cytostatyków.

W początkowym okresie swojej pracy naukowej zajmowałam się pracą doświadczalną, głównie interakcjami leków cytostatycznych w badaniach przeprowadzanych *in vivo* oraz *in vitro*. Modelem wykorzystywanym w badaniach *in vivo* były mysie białaczki przeszczepialne L1210 oraz P388. Oceniałam wpływ arabinozydu cytozyny oraz 2-chlorodeoksyadenozyny (kladrybiny) stosowanych w monoterapii, łącznie oraz w sposób sekwencyjny na czas przeżycia myszy z wszczepioną białaczką. W badaniach zaobserwowałam synergistyczny efekt leków stosowanych sekwencyjnie, co stało się podstawą publikacji (**A. Szmigielska i wsp.** Influence of 2-chlorodeoxyadenosine alone and in combination with cytosine arabinoside on murine leukemias L1210 and P388. Cancer J. 1996). Kolejną pracą przeprowadzoną na podobnym modelu doświadczalnym, w której brałam udział, była ocena interakcji gemcytabiny oraz 2-chlorodeoksyadenozyny. Zaobserwowaliśmy addycyjny efekt łącznie stosowanych leków. Badania te stały się podstawą publikacji (E Marańda, **A. Szmigielska**, T. Robak. Additive action of gemcitabine (2',2'-difluorodeoxycytidine) and 2-chlorodeoxyadenosine on murine leukemias L1210 and P388. Cancer Invest. 1999). Szczególnie interesujący wydał mi się temat interakcji antybiotyków antracyklinowych z kladrybiną. W leczeniu ostrych białaczek stosowane są różne cytostatyki należące do grupy antybiotyków antracyklinowych. Brak badań porównujących aktywność przeciwbiałczkową poszczególnych preparatów oraz ich wpływ na cytotoksyczność 2-chlorodeoksyadenozyny. Przeprowadziłam ocenę interakcji trzech różnych antybiotyków antracyklinowych z 2-chlorodeoksyadenozyną w różnych układach doświadczalnych. Modelem wykorzystywanym w badaniach *in vivo* były mysie białaczki przeszczepialne L1210 oraz P388. Jednocześnie oceniałam interakcje wyżej wymienionych leków w hodowli linii komórkowych tych białaczek wykorzystując metodę MTT. Badania przeprowadziłam też oceniając wpływ leków

stosowanych łącznie lub w monoterapii na apoptozę limfocytów pochodzących ze krwi pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową. Badania te stały się podstawą pracy doktorskiej pt „Interakcje 2-chlorodeoksyadenozyny z antybiotykami antracyklinowymi w badaniach *in vivo* i *in vitro*”. Wyniki prac zostały następnie opublikowane (**A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Anthracyclines potentiate activity against murine leukemias L1210 and P388 *in vivo* and *in vitro*. Eur. J. Haematol 2002 oraz **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Evaluation of apoptosis induced *in vitro* by cladribine (2-CdA) combined with anthracyclines in lymphocytes from patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. Ann. Hematol 2002). Moje zainteresowanie wzbudziły również zagadnienia związane z potencjalnym wpływem leków niecytostatycznych na aktywność przeciwnowotworową 2-chlorodeoksyadenozyny. Przeprowadziliśmy ocenę skuteczności łącznego stosowania 2-chlorodeoksyadenozyny oraz deksametazonu w badaniach *in vivo*. Wyniki naszych doświadczeń wskazywały na brak pozytywnego wpływu sterydów na aktywność kladrybiny i stały się podstawą publikacji (T. Robak, **A. Szmigielska** Dexamethasone does not enhance antileukemic activity of cladribine in mice with leukemias L1210 and P388. Neoplasma 2000). Następną pracą z tego nurtu tematycznego była ocena wpływu cyklosporyny A na aktywność przeciwbiałaczkową 2-chlorodeoksyadenozyny. Uzyskane wyniki pracy przedstawiliśmy w pracy (G. Józefowicz-Okonkwo, **A. Szmigielska-Kapłon**, T. Robak. Cytotoxic effect of cyclosporin A alone and in combination with 2-chlorodeoxyadenosine against P388 murine leukemia *in vivo*. Med. Sci. Monit. 2002).

5.3 Indolentne zespoły limfoproliferacyjne – badania kliniczne oraz ocena mechanizmów angiogenezy, apoptozy, polimorfizmów genów mających wpływ na przebieg kliniczny i ocena oporności na leczenie

#### 5.3.1 Angiogeneza w przewlekłej białaczce limfocytowej

Wpływ procesów angiogenezy na przebieg kliniczny oraz efekty leczenia pacjentów z zespołami limfoproliferacyjnymi to jeden z tematów badawczych w których uczestniczyłam. W Klinice Hematologii UM w Łodzi przeprowadziliśmy badania angiogenezy u pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową za pomocą metod pośrednich- krążących komórek śródbłonna jak i za pomocą bezpośredniej oceny gęstości naczyń w materiale z trepanobiopsji szpiku. Wyniki stały się podstawą publikacji oryginalnych: (1. **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Influence of cladribine alone and in combination with cyclophosphamide or cyclophosphamide and mitoxantrone on bone marrow angiogenesis in chronic lymphocytic

leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2007, 2. J. Góra-Tybor, K. Jamroziak, **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Evaluation of circulating endothelial cells as noninvasive marker of angiogenesis in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2009, 3. **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Prognostic value of the bone marrow microvessel density in progressive B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2010 oraz doniesienia zjazdowego : J. Góra-Tybor i wsp. ASH 2007).

5.3.2 Zespoły limfoproliferacyjne – badania mechanizmów apoptozy, polimorfizmów genów mających wpływ na przebieg kliniczny i ocena oporności na leczenie.

Zasadniczym spektrum naukowej działalności Kliniki Hematologii UM w Łodzi jest etiologia oraz patogeneza indolentnych zespołów limfoproliferacyjnych. Moje zaangażowanie w ten nurt działań naukowych zaowocowało następującymi publikacjami: prace oryginalne: 1. P. Smolewski, **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Proapoptotic activity of alemtuzumab alone and in combination with rituximab or purine nucleoside analogues in chronic lymphocytic leukemia cells. *Leuk. Lymphoma* 2005, 2. K. Jamroziak, E. Balcerczak, P. Smolewski, R. W. Robey, B. Cebula, M. Panczyk, M. Kowalczyk, **A. Szmigielska-Kapłon**, i wsp. MDR1 (ABCB1) gene polymorphism C3435T is associated with P-glycoprotein activity in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Pharmacol. Rep.* 2006 oraz 3. E. Lech-Marańda, P. Juszczyński, **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Human leukocyte antigens HLA DRB1 influence clinical outcome of chronic lymphocytic leukemia: *Haematologica* 2007. Wyniki badań przedstawiano w formie doniesień zjazdowych ( EHA 2005, ASH 2005, ASH 2008, EHA 2010)

5.3.3. Zaawansowana choroba, ciężko przeleczeni pacjenci z zespołami limfoproliferacyjnymi – wyzwanie terapeutyczne

Indolentne nowotwory limfoproliferacyjne w zaawansowanym stadium, u ciężko przeleczonych wcześniej pacjentów stanowią duże wyzwanie terapeutyczne. W zespole kierowanym przez Pana Profesora Tadeusza Robaka brałam udział w projektach oceniających skuteczność i bezpieczeństwo różnych schematów chemioterapii w tej trudnej do leczenia grupie pacjentów (prace oryginalne : 1. T. Robak, **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Activity of cladribine combined with etoposide in heavily pretreated patients with indolent lymphoid malignancies. *Chemotherapy* 2005., 2. T. Robak, P. Smolewski, B. Cebula, **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Rituximab combined with cladribine or with cladribine and cyclophosphamide in heavily pretreated patients with indolent lymphoproliferative disorders and mantle cell



lymphoma. Cancer 2006 oraz opis przypadku T. Robak, **A. Szmigielska-Kapłon**, i wsp. Hodgkin's type of Richter's syndrome in familial chronic lymphocytic leukemia treated with cladribine and cyclophosphamide. Leuk. Lymphoma 2003)

#### 5.4. Badania dotyczące ostrej białaczki limfoblastycznej

Jestem członkiem grupy roboczej d/s. ostrej białaczki limfoblastycznej w ramach grupy PALG (Polish Adult Leukemia Group). W Klinice Hematologii UM w Łodzi jestem odpowiedzialna za raportowanie pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną leczonych w ramach kolejnych protokołów PALG-5 oraz PALG-6. W ramach grupy PALG trwa podsumowywanie wyników prospektywnego, wieloośrodkowego projektu dotyczącego leczenia pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną za pomocą protokołu PALG-5, w którym uczestniczyłam. Publikacje są obecnie w trakcie przygotowywania, a wyniki przedstawiono w postaci streszczeń zjazdowych na zjeździe PTHiT w 2013r

Brałam również czynny udział w retrospektywnej, wieloośrodkowej analizie starszych pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną. Analiza obejmowała przypadki zdiagnozowane i prowadzone w ośrodkach należących do PALG . Ostra białaczka u osób starszych przebiega w dużym odsetku przypadku z obecnością obciążających czynników takich jak niekorzystne zmiany w kariotypie, obecność dodatkowych chorób, co utrudnia stosowanie intensywnego leczenia i stanowi kolejny czynnik pogarszający rokowanie tej grupy pacjentów. Uzyskane wyniki opublikowano w pracy oryginalnej (T. Robak, **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Acute lymphoblastic leukemia in elderly : the Polish Adult Leukemia Group (PALG) experience. Ann. Hematol.2004).

Konieczność pogłębionej, wielodyscyplinarnej analizy w sytuacji nietypowej manifestacji klinicznej przedstawiliśmy w trakcie opisu przypadku młodego pacjenta, u którego początkowo postawiono rozpoznanie anemii aplastycznej, a ostatecznie –ostrej białaczki limfoblastycznej (T. Robak, J. Bartkowiak, H. Urbańska-Ryś, **A. Szmigielska-Kapłon** i wsp. Acute lymphoblastic leukemia in adult first manifested as severe aplastic anemia - role of molecular analysis in correct diagnosis. Leuk. Lymphoma 2002)

#### 5.5 Badania dotyczące zespołów mielodysplastycznych

W kręgu moich zainteresowań naukowych znajdują się również epidemiologia, czynniki rokownicze i leczenie zespołów mielodysplastycznych (MDS). Szczególne moje zainteresowanie budzi leczenie tej zróżnicowanej grupy pacjentów (**A. Szmigielska-Kapłon**, T. Robak.: Hypomethylating Agents in the Treatment of Myelodysplastic Syndromes and

Myeloid Leukemia. *Curr. Cancer Drug Targets* 2011). Brałam również udział w pracy klinicznej prowadzonej w naszym ośrodku dotyczącej leczenia pacjentów z MDS. Uzyskane wyniki przedstawiono w publikacji (T. Robak, **A. Szmigielska-Kaplon** i wsp. Efficacy and toxicity of low-dose melphalan in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia with multilineage dysplasia. *Neoplasma* 2003). Wchodzę w skład grupy roboczej ds. leczenia Zespołów Mielodysplastycznych w ramach grupy PALG. Jestem odpowiedzialna za zgłaszanie przypadków leczonych i diagnozowanych w Klinice Hematologii UM w Łodzi do ogólnopolskiego rejestru pacjentów z MDS retrospektywnego a następnie prospektywnego. Trwa podsumowywanie danych epidemiologicznych uzyskanych w ramach rejestru retrospektywnego, przygotowane prace znajdują się obecnie w trakcie recenzowania. Dane epidemiologiczne uzyskane dzięki prowadzeniu zostały zaprezentowane na licznych zjazdach polskich i zagranicznych : 10th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS) 2009, ASH 2009, PTHiT 2011- 4 doniesienia, EHA 2012

#### 5.6 Badania dotyczące ostrej białaczki szpikowej

Brałam udział w badaniach dotyczących wpływu mikrośrodowiska szpiku kostnego na biologię, przebieg kliniczny i efekty leczenia pacjentów z ostrą białaczką szpikową. Wyniki stały się podstawą następujących publikacji : prace oryginalne 1. A. Pluta, A. Wrzesień-Kuś, B. Cebula-Obrzut, A. Wolska, **A. Szmigielska-Kaplon** i wsp Influence of high expression of Smac/DIABLO protein on the clinical outcome in acute myeloid leukemia patients. *Leuk. Res.* 2010, 2. M Czemerska, A.Pluta, **A Szmigielska- Kaplon** i wsp. Jagged-1: a new promising factor associated with favorable prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2014, oraz streszczeń zjazdowych (ASH 2008, EHA 2009, ASH 2009 -2 doniesienia, ASH 2012 oraz ASH 2013). Jestem również współautorem pracy poglądowej (T. Robak, **A. Szmigielska-Kaplon** i wsp. Novel and emerging drugs for acute myeloid leukemia: pharmacology and therapeutic activity. *Curr. Med. Chem.* 2011).

#### 6.Udział w projektach badawczych

6.1 „ Interakcje w zakresie przeciwnowotworowego działania 2-chlorodeoksyadenozyny z antybiotykami antracyklinowymi w badaniach *in vivo* i *in vitro*”. KBN : 4P05B11318- główny wykonawca

6.2. „Optymalizacja leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dorosłych chorych w oparciu o dostosowanie do czynników ryzyka i monitorowania choroby resztkowej – program Polskiej Grupy ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych (PALG)”

7. Dorobek dydaktyczny, popularyzatorski i informacja o współpracy międzynarodowej i z towarzystwami i organizacjami naukowymi i inne osiągnięcia

#### 7.1 . Opieka naukowa nad studentami

A. Prowadzę zajęcia dydaktyczne w formie ćwiczeń i seminariów

- Z chorób wewnętrznych dla studentów III roku Wydziału Lekarskiego
- Z hematologii dla studentów V roku Wydziału Lekarskiego
- Z hematologii dla studentów V roku Wydziału Wojskowo-Lekarskiego
- Z hematologii dla studentów Wydziału Lekarskiego w języku angielskim (English Division)
- Z hematologii dla Oddziału Pielęgniarskiego Wydziału Nauk o Zdrowiu

B. Jestem adiunktem dydaktycznym koordynującym zajęcia z hematologii dla studentów V roku Wydziału Wojskowo-Lekarskiego

C. Byłam opiekunem 2 prac licencjackich na Oddziale Pielęgniarskim Wydziału Nauk o Zdrowiu

D. Opiekowałam się studentami Koła Naukowego w ramach Indywidualnego Toku Studiów

E. Wchodziłam w skład jury *Juvenes pro Medicina* – konkursu studenckich prac naukowych

#### 7.2. Opieka naukowa nad lekarzami

- Jestem kierownikiem specjalizacji z chorób wewnętrznych 2 lekarzy
- Jestem kierownikiem specjalizacji z hematologii 1 lekarza
- Opiekuję się lekarzami odbywającymi staż podyplomowy
- Organizuję i prowadzę staże specjalizacyjne dla lekarzy specjalizujących się w chorobach wewnętrznych i w hematologii.

7.3. Aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych :

1. 18ty Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów Łódź 1999 r.
2. 6th Annual Meeting of the European Hematology Association Frankfurt, Germany, 2001

3. 9ta konferencja Naukowo-Szkoleniowa Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów "Hematologia praktyczna i konsultacyjna - transfuzjologia" Jachranka 2002
4. 7th Annual Meeting of European Hematology Association Florence, Italy, 2002
5. 8th Annual Meeting of the European Hematology Association Lyon, France, 2003
6. 3cia Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów "Przewlekłe choroby mielo- i limfoproliferacyjne" Kazimierz Dolny, 2006
7. 51st Annual Meeting of the American Society of Hematology, New Orleans, USA, 2009
8. 17th Annual Meeting of the European Hematology Association, Amsterdam, The Netherlands, 2012
9. 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology , Atlanta, USA, , 2012
10. 39th Annual Meeting of European Society for Blood and Marrow Transplantation, London, UK, 2013
11. 55th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Nowy Orlean, USA, 2013
12. 40th Annual Meeting of European Society for Blood and Marrow Transplantation, Milan, Italy, 2014

#### 7.4. Członkostwo w organizacjach i towarzystwach naukowych

- Członek Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów (PTHiT)
- Członek Polskiej Grupy ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych (Polish Adult Leukemia Group - PALG)
- Członek Polskiej Federacji Ośrodków Transplantacji Szpiku
- Członek European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)

#### 7.5. Staże w zagranicznych ośrodkach naukowych lub akademickich

- 07-08. 2004 staż w ośrodku hematologicznym w Leeds w Wielkiej Brytanii,(Leeds Teaching Hospital )

#### 7.6. Recenzowanie artykułów do czasopism międzynarodowych

Pełniłam rolę recenzenta dla czasopism

- Immunobiology 2013

- Gene Therapy & Molecular Biology □ 2014.
- Cellular Physiology and Biochemistry Journal 2014
- Clinical Interventions in Aging 2014

#### 7.7. Nagrody za działalność naukową

- 2003r - Nagroda Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
Indywidualna nagroda naukowa stopnia II
- 2005r - Zespołowa nagroda Ministra Zdrowia.  
Ocena skuteczności i toksyczności nowych metod leczenia niektórych nowotworów układu krwiotwórczego
- 2006r - Zespołowa nagroda Ministra Zdrowia  
Za cykl publikacji dotyczących badań nad biologią i terapią białaczek
- 2012 - - Nagroda Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
nagrada naukowa stopnia II
- 2014 - Nagroda Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
nagrada naukowa stopnia III - dwukrotnie

02. 2012 - 2014

A. Supleha