



Lublin, 10.12.2023 r.

**Recenzja w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora  
habilitowanego  
dr n. med. Iwonie Kwiecień  
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne**

*Kryteria uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego zostały zawarte w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z późniejszymi aktualizacjami (Dz. U. z 2021., poz. 478). Wynika z nich, że stopień doktora habilitowanego może być nadany osobie, która posiada stopień doktora oraz:*

- 1. posiada w dorobku osiągnięcia naukowe albo artystyczne, stanowiące znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny, w tym co najmniej:*
  - a. 1 monografię naukową wydaną przez wydawnictwo, które w roku opublikowania monografii w ostatecznej formie było ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a, lub*
  - b. 1 cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, lub*
  - c. 1 zrealizowane oryginalne osiągnięcie projektowe, konstrukcyjne, technologiczne lub artystyczne;*
- 2. wykazuje się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.*

## **Podstawowe informacje o dr n. med. Iwonie Kwiecień**

Pani dr Iwona Kwiecień urodziła się w 1988 roku. W 2012 roku z wyróżnieniem obroniła i otrzymała dyplom diagnosty laboratoryjnego na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. W roku 2017 otrzymała stopień doktora nauk medycznych na I Wydziale Lekarskim Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, na podstawie rozprawy doktorskiej pt: „Badanie wybranych elementów regulacji odpowiedzi odpornościowej w raku płuca”. Promotorem rozprawy była Pani prof. hab. n. med. Joanna Domagała-Kulawik. W 2022 roku zdała egzamin specjalizacyjny z zakresu laboratoryjnej hematologii medycznej w Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi, uzyskując tytuł specjalisty w tym zakresie.

W latach 2016-2017 dr Iwona Kwiecień zatrudniona była na stanowisku młodszego asystenta w Katedrze Patomorfologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Następnie w latach 2017-2022 zatrudniona była jako specjalista, a następnie (od roku 2020) jako asystent w Pracowni Hematologii i Cytometrii Przepływowej Kliniki Chorób Wewnętrznych i Hematologii Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego. Od roku 2022 zatrudniona jest na stanowisku adiunkta w wyżej wymienionej jednostce.

## **Informacje o dorobku naukowo-badawczym dr n. med. Iwony Kwiecień oraz o współpracy naukowej z innymi instytucjami naukowymi krajowymi i europejskimi**

Analiza bibliometryczna wykonana w dniu 11 kwietnia 2023 roku przez Bibliotekę Narodową Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie wskazuje, że pani doktor Iwona Kwiecień jest autorką lub współautorką 33 pełnotekstowych publikacji, w tym prace opublikowane przed otrzymaniem stopnia doktora nauk medycznych to 11, a po uzyskaniu stopnia doktora – 22. Liczba punktów MNiSW/MEiN pani Doktor Kwiecień uzyskanych przed doktoratem to 181, po uzyskaniu stopnia doktora: 2 225, ogółem: 2 406. Liczba punktów Impact Factor (IF) uzyskanych przed doktoratem wynosi 10.896, po uzyskaniu stopnia doktora: 102.391. Na dzień przygotowania analizy bibliometrycznej całkowity IF prac naukowych pani doktor Kwiecień (bez prac wchodzących w cykl publikacji) wynosi 113.287. Łączna suma cytowań publikacji naukowych pani Doktor wynosi 146 (włączając autocytowania – 172), a Jej indeks Hirscha  $h$  - 8. Pani Doktor Kwiecień brała udział w krajowych i zagranicznych kongresach naukowych. Jest autorką 4 streszczeń naukowych



prezentowanych na krajowych konferencjach oraz 41 streszczeń prezentowanych na konferencjach zagranicznych. Kandydatka nie ma w swoim dorobku żadnego autorstwa lub współautorstwa rozdziału w podręczniku krajowym, zagranicznym, opisu przypadku czy monografii naukowej. Zwraca natomiast uwagę znaczne powiększenie dorobku naukowego po uzyskaniu tytułu doktora.

Doktor Iwona Kwiecień brała udział w licznych stażach i praktykach zawodowych. Były to jednak głównie staże kierunkowe wymagane do zrealizowania planu specjalizacji z laboratoryjnej hematologii medycznej. Doktor Kwiecień nie odbyła żadnego dłuższego stażu naukowego w zagranicznej jednostce naukowej, a jedyny wyjazd zagraniczny po uzyskaniu stopnia doktora dotyczył udziału w dwudniowym seminarium pt: „Immunotherapy: a new standard of care in thoracic malignancies” (Paryż, maj 2017).

Kariera naukowa i kierunki badań doktor Kwiecień dotyczyły przede wszystkim zastosowania techniki cytometrii przepływowej w diagnostyce chorób układu oddechowego i analizie stanu układu immunologicznego w różnych stanach patologicznych. Były to badania naukowe dotyczące wykorzystania cytometrii przepływowej w innych chorobach płuc, ze szczególnym uwzględnieniem sarkoidozy, w diagnozowaniu chorych z SARS-Cov-2, prace porównawczo – metodologiczne, prace dotyczące oceny profilu komórkowego w raku płuca z wykorzystaniem innych niż cytometria przepływowa metod badawczych, ocena profilu komórkowego u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym i wreszcie wykorzystanie cytometrii przepływowej u pacjentów chorych na raka płuca.

W temacie wykorzystania techniki cytometrii przepływowej w diagnostyce sarkoidozy, doktor Kwiecień była wykonawcą badań prowadzonych w ramach dwóch projektów naukowych finansowanych ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego. Projekty realizowane były we współpracy z Kliniką Pneumonologii i Alergologii i Kliniką Chorób Wewnętrznych i Hematologii Wojskowego Instytutu Medycznego–Państwowego Instytutu Badawczego. Badania dotyczyły charakterystyki immunofenotypowej komórek CD34+ obecnych we krwi obwodowej u chorych z sarkoidozą (lata 2016-2018) oraz projekt dt. komórkowej charakterystyki węzłów chłonnych śródpiersia chorych na raka płuca lub sarkoidozę płucną z wykorzystaniem przezoskrzelowej biopsji węzła pod kontrolą wewnątrzoskrzelowej ultrasonografii EBUS/TBNA (lata 2020-2022). Jako rezultat tych badań, opublikowano dwie

prace – w roku 2020 w czasopiśmie *BMC Pulmonary Medicine* (IF=3.317) oraz w roku 2021 w czasopiśmie *Cells* (IF=7.666), w obu pracach doktor Kwiecień jest drugim autorem.

Nurt badań dotyczący wykorzystania wielokolorowej cytometrii przepływowej w diagnozowaniu chorych z SARS-Cov-2 prowadzony w czasie pandemii COVID-19 zaowocował 5 publikacjami. W dwóch z nich, doktor Kwiecień jest pierwszym autorem, obie prace ukazały się w czasopiśmie *Cells* (w roku 2020 i 2021), w pozostałych trzech pracach Kandydatka miała kluczowy udział w powstaniu pracy rozpoczynając od koncepcji badań, wykonaniu badań cytometrycznych, a kończąc na przeprowadzeniu obliczeń statystycznych i pisaniu manuskryptu. Kandydatka pełniła rolę głównego badacza oraz współbadacza w dwóch projektach finansowanych ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego. Projekty realizowane były we współpracy z Kliniką Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii oraz z Kliniką Chorób Infekcyjnych i Alergologii, Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego. Projekty dotyczyły: 1) charakterystyki komórek kluczowych dla odpowiedzi układu odpornościowego i oceny nowych parametrów hematologicznych u pacjentów z COVID; projekt prowadzony we współpracy z Kliniką Chorób Wewnętrznych i Hematologii WIM-PIB (w latach 2021-2022); 2) oceny wpływu ciężkiego zakażenia płuc w przebiegu infekcji wirusem SARS-CoV-2 na układ oddechowy oraz jakość życia, połączony z analizą kosztów choroby; projekt prowadzony we współpracy z Kliniką Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii WIM-PIB (w latach 2022-2023). Badania prowadzone w ramach tych projektów dotyczyły nie tylko szerokich oznaczeń immunologicznych (określenie profilu komórkowo-cytokinowego, w tym dojrzewania limfocytów B i T oraz wykorzystanie nowego parametru hematologicznego: reaktywnych limfocytów (RE-LYMP), w grupie chorych z zapaleniem płuc w przebiegu COVID-19 o różnym stopniu nasilenia), ale również połączenia technik obrazowania i korelacji ich wyników z danymi immunologicznymi.

Kandydatka w trakcie swojej kariery naukowej koncentrowała się również na technicznych i metodologicznych aspektach badań. Brała udział w porównaniu skuteczności i precyzji diagnostyki komórek hematologicznych z wykorzystaniem dwóch analizatorów hematologicznych. Ponadto, była członkiem zespołu zajmującego się szeroko pojętą diagnostyką i barwieniem regionu organizującego jąderko (NOR) w chorobach hematologicznych. Na uwagę zasługuje również udział Kandydatki w wielośrodkowym



projekcie dotyczącym harmonizacji cytometrycznej oceny minimalnej choroby resztkowej w szpiczaku mnogim w ośrodkach skupionych wokół Polskiego Konsorcjum Szpiczakowego. Wyniki międzyośrodkowego badania porównawczego wskazały, że standaryzacja protokołów oceny choroby resztkowej w szpiczaku mnogim jest wysoce pożądana w celu poprawy jakości i porównywalności wyników w ramach różnych badań klinicznych. Udział doktor Kwiecień jako diagnosty laboratoryjnego, w tym projekcie był bardzo cenny, zaowocował pracą opublikowaną w czasopiśmie *Diagnostics* (IF=3.992) w roku 2021.

Kolejnym nurtem badań Kandydatki były prace dotyczące oceny profilu komórkowego w raku płuca z wykorzystaniem innych niż cytometria przepływowa metod badawczych. W ramach tego tematu powstały dwie prace, a Kandydatka była również kierownikiem projektu pt: "Mechanizmy regulacyjne odpowiedzi immunologicznej w raku płuca" (1WU/PM11D/14; 2014-2015, Warszawski Uniwersytet Medyczny). Doktor Kwiecień oceniła fenotyp limfocytów w węzłach chłonnych chorych na raka płuca dzieląc grupę badwczą na chorych z zajętymi i bez zajętych węzłów chłonnych, oraz wykorzystując technikę barwienia immunohistochemicznego markerów: CD4, CD8, CD25, CTLA-4 i Foxp3. Ponadto, skoncentrowała się na wykazaniu różnic między BALF z płuc dotkniętych rakiem i BALF z przeciwnego, zdrowego płuca, jako kontrola, od tego samego pacjenta, pod względem polaryzacji makrofagów i ich korelacji z poziomem IL-10 i TGF- $\beta$ . Polaryzacja makrofagów była oceniana za pomocą barwień immunofluorescencyjnych. Prace ukazały się w czasopiśmie *Biomed Research International* (2017, IF=2.583) oraz w *Central European Journal of Immunology* (2019, IF=1.415).

Kandydatka zajmowała się również oceną profilu komórkowego u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym (OBS). Skoncentrowała się na zbadaniu limfocytów krwi obwodowej: (limfocyty T, B, NK, NKT, Th, Tc) za pomocą cytometrii oraz oceniła stężenie adiponektyny, interleukiny 1 $\beta$  i TNF- $\alpha$  za pomocą metody ELISA. Skala powikłań OBS została opracowana i wykorzystana do analizy statystycznej. Ponadto, zbadała również komórki Fas-dodatnie u chorych z obturacyjnym bezdechem sennym.

Analizując dorobek naukowy Kandydatki i nurty Jej zainteresowań, na szczególną uwagę zasługują badania wykonane w temacie wykorzystania cytometrii przepływowej do analizy stanu układu immunologicznego u pacjentów chorych na raka płuca. Temat ten Kandydatka zaczęła zgłębiać jeszcze przed uzyskaniem tytułu doktora, publikując pracę dotyczącą porównania obecności limfocytów T regulatorowych w środowisku miejscowego

raka płuca z odpowiedzią immunologiczną ogólnoustrojową na podstawie badania BALF i krwi obwodowej pobranych od tego samego pacjenta. Badania opublikowała, będąc pierwszym autorem, w czasopiśmie *Human Immunology* (2016, IF=2.311). Następnie po obronie tytułu doktora nauk medycznych, Kandydatka uczestniczyła w wielu pracach i badaniach dotyczących tematu wykorzystania cytometrii przepływowej w raku płuca. Scharakteryzowała podtypów monocytów: klasycznych, pośrednich i nieklasycznych z ekspresją markerów powierzchniowych: CD62L, CD11c, CD18, HLA-DR we krwi obwodowej chorych na raka płuca w porównaniu ze zdrowymi osobami z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej. Wyniki tych badań ukazały się w czasopiśmie *Cancers* (2020, IF=6.639). W projekcie tym Kandydatka współpracowała z dwiema instytucjami zewnętrznymi: z Instytutem Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, z Pracownią Endoskopii oraz z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym, Katedrą i Kliniką Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii. Poza pracami oryginalnymi, doktor Kwiecień jest autorem prac poglądowych dotyczących m.in. pochodzenia, diagnostyki i perspektywy zastosowania terapii z wykorzystaniem komórek macierzystych w raku płuca (*Cancers*, 2021) czy modulacji odpowiedzi immunologicznej przez heterogenne monocyty i komórki dendrytyczne w raku płuca (*World Journal of Clinical Oncology*, 2021). Ponadto, zarówno przed uzyskaniem tytułu doktora, jak i potem, Kandydatka publikowała prace w tematyce wykorzystania cytometrii przepływowej w różnych schorzeniach układu oddechowego oraz w innych stanach patologii. W Jej dorobku naukowym zwraca uwagę bardzo konsekwentnie rozwijany nurt badań układu immunologicznego u chorych na raka płuca, szerokie immunoprofilowanie komórek układu immunologicznego, nowatorskie podejście do definiowania komórek immunologicznych na podstawie ekspresji wielu markerów oraz możliwość wykorzystania wyników prowadzonych przez Doktor Kwiecień badań w praktyce klinicznej.

W odniesieniu do kierowanych przez Kandydatkę projektów naukowych, przed uzyskaniem tytułu doktora, była Ona kierownikiem dwóch grantów dla młodych naukowców (2014-2015, 1WU/PM11D/14; 2015-2016, 1WU/PM11D/15) finansowanych przez Warszawski Uniwersytet Medyczny. Po obronie doktoratu, była głównym wykonawcą trzech projektów statutowych finansowanych przez Wojskowy Instytut Medyczny, współbadaczem w dwóch projektach statutowych finansowanych przez WIM. Ponadto, jest promotorem pomocniczym doktoranta Szkoły Doktorskiej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (projekt badawczy pt. „Lung cancer in patients with COPD- clinical characteristics and



markers of immune regulation”. Decyzja nr RND/SDB/0725/161/1/2022). Kandydatka jest również współbadaczem w projekcie RemiRit, który jest randomizowanym, wieloośrodkowym badaniem klinicznym pt. „Personalizowane leczenie immunosupresyjne z użyciem rituximabu w leczeniu układowych zapaleń naczyń z obecnością przeciwciał ANCA” (finansowanym przez Agencję Badań Medycznych), a Jej udział dotyczy wykorzystania techniki cytometrii przepływowej do oceny odsetka komórek CD20+. W chwili obecnej doktor Kwiecień oczekuje na decyzję o finansowanie projektu statutowego pt. „Ocena mikrośrodowiska i profilu antygenowego podtypu raka płuca z wykorzystaniem cytometrii przepływowej w aspiratach z przezoskrzelowej biopsji węzła pod kontrolą wewnątrzoskrzelowej ultrasonografii EBUS/TBNA”, którego jest kierownikiem. Mimo prowadzenia szerokiej współpracy międzyośrodkowej (Kandydatka współpracowała z następującymi ośrodkami: Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, Szpital Specjalistyczny Chorób Płuc w Zakopanem, Zakład Immunologii Translacyjnej i Eksperymentalnej Intensywnej Terapii Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, oraz z licznymi jednostkami naukowymi na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym), która zaowocowała licznymi publikacjami naukowymi, w dorobku Kandydatki brak jest samodzielnego kierowania projektem finansowanym ze źródeł zewnętrznych.

Podsumowując ocenę dorobku naukowego Kandydatki należy stwierdzić, że posiada ona w swoim dorobku liczne prace opublikowane w renomowanych czasopismach posiadających *impact factor*. Przekłada się to na wysoki sumaryczny współczynnik IF, który uległ znacznemu podwyższeniu po uzyskaniu tytułu doktora. Nurt badań Kandydatki jest bardzo przemyślany i konsekwentnie realizowany. Dr Kwiecień nie odbyła żadnego dłuższego naukowego stażu zagranicznego. Kandydatka nie kierowała dotychczas projektem badawczym finansowanym ze źródeł zewnętrznych i ma niewielkie doświadczenie w kierowaniu dużymi zespołami badawczymi. Jednak Jej szeroka współpraca z instytucjami badawczymi i powstałe na jej bazie publikacje naukowe gwarantują stały rozwój Kandydatki i utrzymanie wartości publikacji na dotychczasowym poziomie.

**Ocena merytoryczna i metodologiczna osiągnięcia naukowego pt. „Wykorzystanie wielokolorowej cytometrii przepływowej do oceny profilu antygenowego komórek w bezpośrednim środowisku raka płuca”**

Na osiągnięcie naukowe, będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego składa się cykl 4 publikacji oryginalnych o łącznym współczynniku wpływu (*impact factor, IF*) równym 26,304 (według bazy Journal Citation Reports; wszystkie publikacje posiadają IF) i punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW): wynoszącej 560 punktów. We wszystkich pracach dr Iwona Kwiecień jest pierwszym autorem. Prace są aktualne, oryginalne i ukazały się w latach 2019-2022.

Celem cyklu publikacji zakwalifikowanych do osiągnięcia naukowego dr Iwony Kwiecień było scharakteryzowanie profilu antygenowego komórek znajdujących się w bezpośrednim otoczeniu guza nowotworowego płuca z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej. Materiałami do wykonanych badań były: płyn z BAL pobrany zarówno z płuca zajętego chorobą nowotworową, jak i z płuca „zdrowego” od tego samego pacjenta lub aspiraty węzłów chłonnych uzyskanych metodą aspiracji przezoskrzelowej pod kontrolą USG (EBUS/TBNA). Doktor Iwona Kwiecień postawiła 4 szczegółowe cele swojego osiągnięcia: 1. Ocena ekspresji receptora programowanej śmierci 1 (PD-1, ang. programmed death receptor1) i CTLA-4 (ang. cytotoxic T cell antygen-4) na limfocytach T w różnych stadiach dojrzewania w mikrośrodku guza raka płuca, zdrowym płucu i krążeniu systemowym z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej; 2. Ocena ilościowa makrofagów pęcherzykowych oraz ekspresji na nich ligandów dla PD-1 czyli cząsteczek PD-L1 i PD-L2 w odniesieniu do limfocytów T u pacjentów z rakiem płuca; 3. Ocena dojrzewania limfocytów T i wyodrębnienia dominującej subpopulacji w przerzutowych aspiratach węzłów chłonnych śródpiersia wraz z oceną ilościową innych podstawowych subpopulacji leukocytów w tym: limfocytów T regulatorowych, Th17, limfocytów B, komórek NKT, komórek NK, monocytów, granulocytów; 4. Ocena dojrzewania komórek dendrytycznych z węzłów chłonnych śródpiersia oraz wyodrębnienie dominującej subpopulacji komórek dendrytycznych w przerzutowych aspiratach węzłów chłonnych śródpiersia.

Celem pierwszej z prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, opublikowanej w czasopiśmie *Cancers*, była ocena ekspresji PD-1 i CTLA-4 na limfocytach T w różnych kompartmentach. Nowatorskim elementem pracy było zastosowanie materiału BALF pobranego z płuca dotkniętego chorobą nowotworową (clBALF jako środowisko lokalne), w porównaniu z przeciwległym „zdrowym” płucem, BALF pobranego symetrycznie z płuca zdrowego (hlBALF jako kontrola) oraz krwi obwodowej (odzwierciedlającej zmiany



ogólnoustrojowe) od tego samego pacjenta. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono istotne różnice w ekspresji cząsteczki PD-1 i CTLA-4 na limfocytach T CD8-pozytywnych i CD4-pozytywnych w zależności od statusu ich aktywacji w mikrośrodku raka płuca. Zaobserwowano różnice w proporcji komórek PD-1+ i CTLA-4+ w BALF w porównaniu z krwią obwodową u tego samego pacjenta oraz podwyższone proporcje aktywowanych limfocytów T cytotoksycznych z ekspresją cząsteczek PD-1 i CTLA-4 w cBALF, zwłaszcza w raku płaskonabłonkowym. Po raz pierwszy zastosowano bezpośrednie porównanie odsetka limfocytów T na różnych etapach dojrzewania z BALF płuca dotkniętego rakiem i BALF z przeciwnego „zdrowego” płuca. Prezentowana praca była finansowana w ramach grantu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego 1WU/PM11D/15, doktor Iwona Kwiecień była kierownikiem tego projektu.

Celem drugiej pracy włączonej przez doktor Kwiecień do cyklu osiągnięcia naukowego jest publikacja dotycząca oceny ekspresji cząsteczek PD-L1 i PD-L2 na makrofagach pęcherzykowych w odniesieniu do limfocytów T u chorych z rozpoznaniem rakiem płuca. Praca ta opublikowana została w czasopiśmie *Translational Lung Cancer Research*. Materiałem do badania, podobnie jak w pierwszej pracy, był płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego płuca zajętego procesem nowotworowym oraz przeciwległego „zdrowego” płuca. Wybór metody BAL z modyfikacją płukania płuca objętego chorobą i płuca symetrycznego „zdrowego” wynikał z doświadczenia badaczy uzyskanego na podstawie poprzednich analiz i możliwości zastosowania takiej modyfikacji w praktyce. Wnioski płynące z tej pracy dotyczyły możliwości zbadania szlaku PD-1-PD-L1/PD-L2 w środowisku raka płuca, co może pomóc w znalezieniu nowych potencjalnych biomarkerów do immunoterapii. Ponadto, stwierdzono, że dokładna ilościowa identyfikacja makrofagów za pomocą cytometrii przepływowej w BALF jest możliwa, jednak autofluorescencja makrofagów nie pozwoliła na ocenę rzeczywistej ekspresji zarówno cząsteczki PD-L1, jak i PD-L2. Publikacja ta powstała w ramach grantu międzyośrodkowego finansowanego ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego Wojskowego Instytutu Medycznego nr 488.

Celem trzeciej pracy włączonej do osiągnięcia naukowego było określenie dominujących subpopulacji limfocytów T pomocniczych i cytotoksycznych w przerzutowych i nieprzerzutowych węzłach chłonnych chorych na raka płuca. Praca opublikowana została w czasopiśmie *Frontiers in Immunology*. Aspiraty z węzłów chłonnych uzyskano podczas

procedury EBUS/TBNA, a komórki analizowano metodą cytometrii przepływową. Stosując odpowiednią kombinację przeciwciał, wyróżniono i oceniono 5 podtypów limfocytów T pomocniczych i 5 wśród limfocytów T cytotoksycznych. Dodatkowo zbadano komórki powiązane z Th17, limfocyty T regulatorowe i komórki Tregs z ekspresją antygenu CD45RO. Jest to jedna z nielicznych prac w literaturze światowej, w której dokonano tak szczegółowego podziału subpopulacji limfocytów T u chorych na raka płuca. W badaniu po raz pierwszy przedstawiono znaczące różnice w podzbiorach komórek T w zależności od procesu przerzutowego raka płuca. W pracy potwierdzono ponadto, że szczegółowa analiza komórek T w materiale z węzłów chłonnych może zapewnić wgląd w status immunologiczny tych węzłów, a tym samym odzwierciedlać lokalne mikrośrodowisko nowotworowe.

Ostatnia z prac włączonych do cyklu, która opublikowana została w czasopiśmie *Cancer Immunology and Immunotherapy*, dotyczy oceny odsetka komórek dendrytycznych (DC) i ekspresji wybranych markerów (PD-L1, PD-1, CD80) w przerzutowych i nieprzerzutowych węzłach chłonnych oraz we krwi obwodowej u chorych na raka płuca. Dodatkowo oceniono ekspresję cząsteczki PD-1 na limfocytach T w omówionych wyżej materiałach. Komórki dendrytyczne podzielono na subpopulacji niedojrzałych DCs (imDC), konwencjonalne DC (cDC), plazmacytoidalne DC (pDC) oraz regulatorowe DC (DCregs). Aspiraty węzłów chłonnych uzyskano podczas zabiegu EBUS/TBNA u chorych z pierwotnym rakiem płuca, a komórki analizowano metodą wielokolorowej cytometrii przepływową. W pracy wykazano, że komórki dendrytyczne wykazują zwiększoną ekspresję cząsteczek PD-1, PD-L1 i CD80 w przerzutowych węzłach chłonnych u chorych na raka płuca, odzwierciedlając mikrośrodowisko hamujące nowotwór. Zaobserwowano znaczny wzrost udziału DCregs w przerzutowych węzłach chłonnych. Można przypuszczać, że dojrzałe DC naciekające przerzutowe węzły mogą przekształcić się w DCregs, które biorą udział w hamowaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej.

Podsumowując, cykl prac włączonych do osiągnięcia naukowego jest przemyślany, jednolity, jego główną myślą przewodnią jest analiza ilościowa stanu układu immunologicznego w materiale pobranym z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego u chorych na raka płuca oraz w aspiratach z węzłów chłonnych. We wszystkich pracach wykorzystano technikę cytometrii przepływową do oceny ekspresji wybranych antygenów oraz odsetka analizowanych subpopulacji komórek. Wyniki tych prac wnoszą istotne informacje o stanie układu immunologicznego w badanych materiałach oraz wskazują na możliwość



wykorzystania tych materiałów do zaplanowanych badań. Wyniki prac potwierdzają występowanie różnic w badanych populacjach komórek immunokompetentnych w zależności od odległości od toczącego się procesu nowotworowego na podstawie badania BALF z miejsca najbliższej zmiany, BALF pobranego symetrycznie ze „zdrowego płuca” i krwi obwodowej od tego samego pacjenta. Wykazano zróżnicowaną ekspresję cząsteczek immunologicznych punktów kontrolnych na limfocytach obwodowych i płucnych, które różniły się w zależności od stadium dojrzewania limfocytów T oraz typu histopatologicznego nowotworu. Wykazano występowanie charakterystycznych dominujących subpopulacji komórek immunologicznych w aspiratach z przerzutowych węzłów chłonnych w porównaniu do węzłów chłonnych bez przerzutu. Mimo, że wszystkie prace ukazały się w indeksowanych i recenzowanych czasopismach, należy zwrócić uwagę na pewne ich ograniczenia. Po pierwsze, jedyną techniką wykorzystaną we wszystkich czterech pracach była cytometria przepływowa. Posiadając materiały tak unikalne jak BALF z płuca zajętego procesem nowotworowym i BALF z równoległego zdrowego płuca zasadne byłoby pokusić się o wykonanie dodatkowych badań, jak analiza molekularna wybranych mikroRNA, czy stężenia czynników rozpuszczalnych, cytokin lub chemokin ocenionych techniką ELISA. Ponadto, wykorzystując technikę cytometrii, Autorka skoncentrowała się jedynie na ocenie markerów powierzchniowych, pomijając zupełnie możliwość funkcjonalnej oceny wybranych populacji komórek np. poprzez analizę wewnątrzkomórkowych czynników transkrypcyjnych czy zdolności komórek do produkcji cytokin. Oczywiście, udowodniła możliwość wykorzystania cytometrii przepływowej do badania stanu układu immunologicznego w opisanych materiałach i szeroko opisała znajdujące się tam subpopulacje komórek, wskazując jednoznacznie na różnice pomiędzy mikrośrodowiskiem nowotworowym a środowiskiem zdrowego płuca. Wiedza ta ma duże znaczenie praktyczne, może dać podstawy do opracowania nowych metod immunoterapii koncentrujących się na modulacji funkcji obecnych w mikrośrodowisku komórek.

**Informacje o dorobku dydaktycznym i organizacyjnym oraz popularyzujących naukę  
dr n. med. Iwony Kwiecień**

Pani doktor Iwona Kwiecień w trakcie odbywania studiów doktoranckich (w latach 2012-2016) prowadziła regularne zajęcia dydaktyczne dla studentów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (realizując wymagane pensum dydaktyczne). W tym czasie

wygłosiła również dwa wykłady na posiedzeniu Polskiego Towarzystwa Diagnostów Laboratoryjnych Oddział Warszawski oraz na spotkaniu Warszawskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Immunologii Klinicznej i Doświadczalnej. Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuuje działalność dydaktyczną dla studentów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz prowadzi naukowe szkolenia wewnętrzne w Klinice Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowego Instytutu Medycznego–Państwowego Instytutu Badawczego na temat wykorzystania cytometrii przepływowej, głównie w diagnostyce chorób rozrostowych układu krwiotwórczego. Obecnie prowadzi zajęcia praktyczne w Pracowni Hematologii i Cytometrii Przepływowej Kliniki Chorób Wewnętrznych i Hematologii dla lekarzy realizujących program specjalizacji oraz szkolenia praktyczne dla cytometrystów z innych ośrodków cytometrycznych w Polsce. Doktor Kwiecień brała również czynny udział w licznych spotkaniach naukowych (były to wykłady lub wystąpienia ustne w sesjach plakatowych lub udział w dyskusjach na sesjach tematycznych).

W trakcie swojej kariery naukowej doktor Kwiecień była organizatorem spotkań naukowych w ramach Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej oddziału warszawskiego. Była również członkiem Komitetu Organizacyjnego i Naukowego Minisymposium pt. „Porozmawiajmy o makrofagach” (Warszawa, 2014) oraz konferencji pt. „Sarkoidoza niejedno ma imię” (Ciechocinek, 2015). W latach 2015-2018 była członkiem Zarządu Stowarzyszenia Kulturalno-Edukacyjno-Naukowego „KEN”, gdzie odpowiadała za koncepcję podejmowanych przez Stowarzyszenie działań, m.in. za przygotowywanie i opiniowanie wniosków o dotacje na organizację cyklu warsztatów w warszawskich gimnazjach i szkołach ponadgimnazjalnych. W 2017 roku była współorganizatorem XII Polsko-Francuskiego Spotkania Pulmonologicznego w ramach działalności Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej oddziału warszawskiego. Jako recenzent całokształtu dorobku doktor Kwiecień zwracam uwagę, że od roku 2018 nie podejmuje Ona żadnych aktywności organizacyjnych, bierze jedynie udział w procesie dydaktycznym w zatrudniającą Ją jednostce. Wskazane przez Kandydatkę działania dotyczące organizacji mini sympozjów w ramach Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej Oddziału Warszawskiego, testowanie pierwszego na rynku Cytometru Przepływowego Sysmex, czy udział w programie Zewnętrznej Międzynarodowej Oceny Jakości Cytometrii Przepływowej UK NEQAS, wynikają raczej z rodzaju zatrudnienia doktor Kwiecień i zaliczyłabym je do codziennych obowiązków Pani Doktor. Co więcej, działalność popularyzująca naukę, według informacji podanych w autoreferacie, rozpoczęła



się dopiero w 2023 roku i dotyczy jedynie pełnienia funkcji redaktora gościnnego w czasopiśmie *Cells* (wydawnictwo MDPI), czy członka Rady Redakcyjnej wybranej sekcji czasopisma *Frontiers in Immunology* czy *Cancer Immunity and Immunotherapy*.

Doktor Iwona Kwiecień jest laureatem wielu nagród, wyróżnień i stypendiów, w tym przed uzyskaniem tytułu doktor uwagę zwraca otrzymanie medalu dla najlepszego absolwenta Medycyny Laboratoryjnej „Złoty laur absolwenta”, Złota nagroda Polish Society of Lung Diseases, XXXIII Congress of the Polish Society of Lung Diseases" za badanie pt.: "CTLA-4 expression on CD4+/CD25+high cells in lung cancer patients", czy wielokrotnie przyznawane nagrody zespołowe i stypendia naukowe Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Po uzyskaniu tytułu doktora, Kandydatka otrzymała Dyplom za wyróżniającą postawę i pracę z okazji Dnia Diagnostyki Laboratoryjnej, oraz dwukrotnie została uhonorowana zespołową nagrodą naukową Dyrektora Wojskowego Instytutu Medycznego (nagroda II i I stopnia).

Doktor Iwona Kwiecień jest członkiem jednego zagranicznego towarzystwa naukowego (ERS European Respiratory Society), oraz 4 polskich towarzystw naukowych, w tym w latach 2017-2020 pełniła funkcję skarbnika Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej oddziału warszawskiego.

Na podstawie powyższych faktów, stwierdzam, że doktor Iwona Kwiecień jest doświadczonym dydaktykiem, może także poszczycić się pewnymi osiągnięciami organizatorskimi i jest w trakcie rozwijania swoich zdolności popularyzujących naukę.

### **Podsumowanie**

Dotychczasowy rozwój zawodowy (specjalizacja z laboratoryjnej hematologii medycznej), odpowiedni dorobek naukowy pozytywnie zweryfikowany poprzez publikacje w czasopismach o wysokim współczynniku wpływu w renomowanych czasopismach, prawidłowy dobór artykułów do osiągnięcia naukowego oraz odpowiednie doświadczenie dydaktyczne i organizacyjne wskazuje jednoznacznie, że dr n. med. Iwona Kwiecień zasługuje na dopuszczenie do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego. Jako Recenzent Jej całokształtu naukowego zwracam uwagę na bardzo jasno wytyczony kierunek badań doktor Kwiecień, konsekwentnie realizowany na każdym etapie kariery naukowej, a jego poziom doceniany był wielokrotnie, na co wskazują

otrzymane przez Doktor nagrody i wyróżnienia. Ponadto, przedstawione osiągnięcie naukowe, będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, charakteryzuje się jednolitym i przemyślanym doбором publikacji i co bardzo istotne - może mieć praktyczne zastosowanie kliniczne, wnosząc do świata nauki wiele nowych i istotnych informacji.

Z tych względów stwierdzam, że dr n. med. Iwona Kwiecień spełnia warunki określone w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (z późn. zm) i **pozytywnie opiniuję wniosek Kandydatki do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.** Wniosuję do Rady Nauk Medycznych Wojskowego Instytutu Medycznego - Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie o dopuszczenie dr n. med. Iwony Kwiecień do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.

06030  
prof. dr hab. n. med. Kamila Wojaś-Krawczyk  
DIAGNOSTA LABORATORYJNY  
specjalista  
laboratoryjnej immunologii medycznej  
specjalista  
laboratoryjnej genetyki medycznej