

Łódź 20.06.23  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE  
M. Podhorska-Okołów  
zastępca przewodniczącego  
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów

Uniwersytet Medyczny  
we Wrocławiu



RPW/9960/2023 P  
Data: 2023-06-16

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

BIURO RADY DYS-  
CYPLINY NAUKI MEDYCZNE

wpł.  
dnia 16-06-2023

L. dz. RN-BM/

1008

**Klinika Chorób Wewnętrznych i Nefrologii Transplantacyjnej**

tel. 42 2919597, e-mail: [ilona.kuratowska@umed.lodz.pl](mailto:ilona.kuratowska@umed.lodz.pl)

Łódź, 02.06.2023

**Prof dr hab. n. med. Ilona Kurnatowska**

Klinika Chorób Wewnętrznych i Nefrologii Transplantacyjnej,

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

[ilona.kurnatowska@umed.lodz.pl](mailto:ilona.kurnatowska@umed.lodz.pl)

## RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

Lek. Paweł Poznański

*„Analiza mechanizmów skuteczności leczenia immunosupresyjnego u biorców przeszczepu nerki z wykorzystaniem parametrów farmakogenomicznych i farmakokinetycznych metabolizmu leków, a także oceny działań niepożądanych i jakości życia”*

promotor: dr hab. n. med. Dorota Kamińska

Przeszczepianie nerek jest najskuteczniejszą metodą leczenia nerkozastępczego, pozwalającą na dłuższe przeżycie i lepszą jakość życia chorych ze schyłkową niewydolnością nerek. Dzięki coraz doskonalszym metodom chirurgicznym oraz terapii immunosupresyjnej znacznie poprawia się wczesne przeżycie nerki przeszczepionej, w mniejszym stopniu, ale również przeżycie długoterminowe. Na wyniki wczesne jak i długoterminową czynność nerki przeszczepionej wpływ ma wiele czynników. Należą do nich m.in. zjawiska immunologiczne determinujące wystąpienie odrzucania zarówno tego ostrego jak i przewlekłego, jakość przeszczepianych narządów, wiek dawcy i biorcy, choroby współistniejące, ale również rodzaj immunosupresji. W dalszym okresie po przeszczepieniu nerki decydujący wpływ na długoterminowe przeżycie, i nerki, i chorego ma odpowiednie dobranie siły immunosupresji, gdyż zbyt słaba będzie skutkowała odrzucaniem narządu, a zbyt silna powikłaniami przede wszystkim infekcjami i nowotworzeniem.

W leczeniu chorych po przeszczepieniu obowiązuje indywidualizacja, a właściwie personalizacja leczenia, dotycząca bardziej dawek niż rodzajów stosowanych leków. Stosowane są bowiem podobne schematy immunosupresji, zazwyczaj trójlekowe z glikokortykosteroidem, inhibitorem kalcyneuryny i pochodną kwasu mykofenolowego. W ostatnich latach takrolimus wypała cyclosporynę w leczeniu chorych po przeszczepieniu nerki. Jest to lek o wąskim oknie terapeutycznym stąd obowiązuje monitorowanie stężenia leku we krwi i dostosowanie dawek. Lek ten jest metabolizowany przez cytochrom P450 (CYP), który wykazuje wiele polimorfizmów. Dla metabolizmu leków immunosupresyjnych szczególne znaczenie ma podrodzina CYP3A, a w szczególności: CYP3A4 i CYP3A5. Dotychczas zidentyfikowano ponad 30 różnych alleli w przypadku *CYP3A4* i ponad 20 alleli w przypadku *CYP3A5*, który uczestniczy w metabolizmie wielu leków i substancji zawartych w pokarmach, więc na stężenie takrolimusu (TAC) ogromny wpływ mają stosowane inne leki, suplementy oraz dieta. Stąd pojawiają się sugestie, że znajomość polimorfizmów genu cytochromu CYP mogłoby pomóc w ustaleniu optymalnego dawkowania leku dla indywidualnego pacjenta. Drugi spośród immunosupresantów – mykofenolan mofetylu - nie ma wymogu bezwzględnego monitorowania stężenia. Stąd też doświadczenie w monitorowaniu stężenia kwasu mykofenolowego jest mniejsze i niektóre ośrodki oznaczają stężenie tylko w określonych wskazaniach.

Biorąc pod uwagę znaczenie odpowiedniego doboru immunosupresji u indywidualnego chorego, licznych interakcji i działań niepożądanych, Doktorant w swojej pracy podjął się wyjaśnienia bardzo istotnych klinicznie zagadnień dotyczących oceny wpływu stosowanego protokołu immunosupresyjnego na losy przeszczepionej nerki oraz występowanie działań niepożądanych z uwzględnieniem:



1. Monitorowania farmakokinetycznego ekspozycji na kwas mykofenolowy oraz takrolimus;
2. Analizy polimorfizmów genów wpływających na metabolizm leków immunosupresyjnych;
3. Wyników rutynowych badań laboratoryjnych, w tym parametrów systemowej odpowiedzi zapalnej;
4. Monitorowania polifarmakoterapii i interakcji międzylekowych.

Cele pracy wynikają z założeń, których podwaliny zostały przedstawione we wstępie.

Przedstawiona do oceny praca liczy 145 stron, w tym 63 tabel oraz 6 rycin i ma układ typowy dla prac na stopień naukowy doktora. Na początku Autor zamieścił spis treści oraz wyjaśnienie stosowanych skrótów. Wyodrębnione rozdziały to Wstęp, Cele pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie w języku polskim i angielskim. Do pracy załączony został również opisany w metodyce autorski kwestionariusz subiektywnej oceny działań niepożądanych stosowanych leków. Na końcu pracy umieszczono 230 pozycji trafnie dobranego i aktualnego piśmiennictwa.

We wstępie pracy autor zaznajamia czytelnika z podstawowymi danymi dotyczącymi epidemiologii schyłkowej niewydolności nerek, częstości stosowania poszczególnych metod leczenia nerkozastępczego w tym przeszczepienia nerki. Następnie przedstawia mechanizmy immunologiczne biorące udział w odpowiedzi na przeszczepiony narząd tłumaczące potrzebę stosowania leczenia immunosupresyjnego. Kolejny podrozdział poświęcony jest leczeniu immunosupresyjnemu, z prezentacją poszczególnych klas leków stosowanych w podstawowych schematach immunosupresyjnych zarówno w leczeniu indukcyjnym jak i podtrzymującym u chorych po przeszczepieniu nerki. Mechanizmy działania poszczególnych leków immunosupresyjnych, bardzo przejrzyście przedstawia Rycina 1 (czy jest to autorska rycina, czy też zaczerpnięta z piśmiennictwa? – warto byłoby taka informację zamieścić przy jej tytule). Autor szczególnie zwraca uwagę na aspekty farmakodynamiki i farmakokinetyki inhibitorów kalcyneuryny ale też mykofenlanu mofetylu. Pisząc o takrolimucie, Doktorant zwraca uwagę na aspekty genetyczne determinujące metabolizm tego leku, o których wspomniano w słowie wstępnym tej recenzji. Podkreśla znaczenie terapii monitorowanej jako metody indywidualizacji i personalizacji leczenia immunosupresyjnego. Jeden z podrozdziałów poświęcony jest działaniom niepożądanym i powikłaniom leków immunosupresyjnych, których wystąpienie często wpływa na *compliance* chorych, co przekłada się na długość przeżycia i nerki i chorego. W podrozdziale tym zawarte są również informacje dotyczące interakcji leków immunosupresyjnych z innymi powszechnie stosowanymi lekami u chorych po przeszczepieniu, między innymi inhibitorami pompy protonowej oraz zażywany



suplementami. Wstęp stanowi dobre podłoże do wyjaśnienia celów pracy. Na stronie 1 w Tabl 1 wkradł się błąd edytorski – mianowicie strzałka dotycząca konieczności zwiększenia siły immunosupresji powinna być postawiona odwrotnie, nasilenie farmakologicznej immunosupresji powinno być największe w przeszczepie ksenogenicznym.

Rozdział „Materiał i metody” zawiera informacje dotyczące metod badawczych użytych w pracy. Przedstawia dokładnie kryteria doboru grupy badanej. Proponuję przenieść rozdział poświęcony charakterystyce demograficznej i klinicznej obserwowanych chorych do rozdziału wyniki.

Do badania zakwalifikowano 130 pacjentów po przeszczepieniu nerki, będących w odległym okresie po zabiegu, u których wykonano przeszczep w latach 2000–2020, a średni czas od operacji do włączenia do badania wynosił  $6,2 \pm 5,0$  lat. Następnie pacjenci zostali poddani 18 miesięcznej obserwacji. Autor podaje informację o obecności replikacji wirusa BKV u części badanych w chwili włączenia do badania. *Wskazane byłoby wyjaśnienie dlaczego tylko ten wirus został wzięty pod uwagę, a nie np. wirus EBV czy jeszcze powszechniejsze zakażenia CMV w wywiadzie?* Oprócz zagadnień dotyczących oznaczeń stężeń kwasu mykofenolowego, oceny systemowej reakcji zapalnej na podstawie parametrów morfologii za bardzo interesujące należy uznać oznaczanie polimorfizmów genów biorących udział w metabolizmie TAC, danych takich nie było jak dotąd dostępnych dla populacji polskiej. Biorąc zaś pod uwagę wielolekowość stosowaną u chorych po KTx interesujące są również oceniane przez Doktoranta potencjalne interakcje międzylekowe, które określono przy użyciu aplikacji mobilnej Lexicomp® uważanej za jedno z najlepiej działających badań przesiewowych pDDI (*potential drug-drug interactions*), ze swoistością określaną w zakresie 80–90% oraz czułością 87–100%. Przeprowadzona została również wśród pacjentów autorska ankieta oceniająca występowanie działań niepożądanych stosowanych leków immunosupresyjnych. Kolega Poznański, jak widać postanowił przeprowadzić swoje badania wielokierunkowo z uwzględnieniem wielu aspektów.

Wyniki tej wielokierunkowej analizy statystycznej zebranych danych zostały opisane szczegółowo, i precyzyjnie przedstawione w postaci przejrzyste skonstruowanych tabel i rycin, pod którymi Autor zamieszcza ich jasną interpretację. Do ich opracowania użyto dobrze dobranych narzędzi statystycznych, opisanych w metodyce.

Umieszczenie w rozdziale „Wyniki” części metodyki, dotyczącej np. podziału na subterapeutyczne, terapeutyczne i supratherapeutyczne stężenia leków itp. ułatwia zdecydowanie czytelnikowi interpretację wyników. Bardzo istotną obserwacją jest wykazanie zakresu stężeń kwasu mykofenolowego  $C_0 \leq 1,5 \mu\text{g/ml}$  oraz  $> 2,7 \mu\text{g/ml}$ , w pojedynczych pomiarach, które wskazują pacjentów zagrożonych uzyskaniem wartości AUC poza zakresem terapeutycznym (w tym celu przeprowadzono analizę krzywych ROC). Obliczenie AUC wymaga wyliczenia



pola pod krzywą stężenie-czas, co jest kosztowne, pracochłonne i wymaga zaangażowania personelu w celu pobierania 3. krotnie krwi w ściśle określonym czasie. Obserwacja, że jednorazowe oznaczenie stężenia MPA i do tego podanie zakresu stężeń, które odpowiada zalecanym AUC jest klinicznie bardzo ważna. Ponadto, istotnym jest wykazanie, że zażywanie inhibitora pompy protonowej istotnie obniża stężenie kwasu mykofenolowego we krwi, podobnie jak na stężenie to ma wpływ czynność komórki wątrobowej. Nie wykazano takich zależności jeżeli chodzi o metabolizm takrolimusu, leku metabolizowanego przez wątrobę, wykazującego wiele interakcji lekowych. W dyskusji Doktorant słusznie tłumaczy, że niższe stężenia kwasu mykofenolowego we krwi chorych z cechami uszkodzenia komórki wątrobowej, mogą wskazywać na upośledzenie sprzężania leku z kwasem glukuronowym. Trzeba podkreślić, że związek uszkodzenia komórki wątrobowej ze stężeniem MPA nie był dotąd szeroko przebadany, częściej badania dotyczyły stężeń TAC oraz czynność wątroby. W swojej pracy podzielił Doktorant pacjentów na szybko i wolno metabolizujących takrolimus, wyznaczając punkt odcięcia  $C_0/D_{TAC}$  1,67 (ng/mL)/mg. Chorzy szybko metabolizujący wykazywali istotnie gorszą funkcję filtracyjną nerek w porównaniu do grupy osiągającej współczynnik  $C_0/D_{TAC}$  powyżej tej wartości. Dane te potwierdzają doniesienia literaturowe, w tym własne badania Recenzującej. Za bardzo istotną klinicznie obserwację należy również uznać, wykazaną na podstawie przeprowadzonych przez Doktoranta badań polimorfizmów genów, homogenność polskiej populacji chorych po przeszczepieniu nerki pod względem genów kodujących enzymy wpływające na szybkość metabolizmu inhibitorów kalcyneuryny. Doktorant wykazał, że niemal wszyscy biorcy posiadali genotyp *CYP3A5*\*3/\*3 odpowiadający utracie aktywności enzymatycznej, zaś w przypadku *CYP3A4* u przeważającej większości osób stwierdzono wariant \*1/\*1 nie zwiększający metabolizmu lekowego. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi polimorfizmami genu *ABCB1*, a parametrami farmakokinetycznymi MPA ani TAC. Prowadzenie więc tych kosztownych i mało dostępnych badań nie ma większego znaczenia klinicznego i że prawdopodobnie nie przyczyni się do poprawy odległych wyników transplantacji nerek.

W badaniach ankietowych Doktorant wykazał jednoznacznie, że przeszczepienie nerki poprawia ogólny dobrostan pacjenta, zaś do najczęściej raportowanych przez biorców zdarzeń niepożądanych należały zwiększenie masy ciała, nadciśnienie tętnicze, bóle kostno-stawowe oraz skurcze mięśniowe. Ich wystąpienie nie miało związku z parametrami farmakokinetycznymi kwasu mykofenolowego, natomiast wykazano słabe ujemne korelacje pomiędzy współczynnikiem C/D dla TAC, a występowaniem objawów z układu nerwowego i skórnych. Polimorfizmy ocenianych genów nie wpływały na obecność raportowanych zdarzeń niepożądanych.



Wyniki swoich obserwacji, wykazane zależności lub ich brak, Doktorant prezentuje w kontekście dostępnego piśmiennictwa i wyników innych badaczy w kolejnym rozdziale. Dyskusja napisana jest rzeczowo i na temat. W pierwszej części Autor omawia zagadnienia dotyczące farmakokinetyki TAC oraz mykofenolanu mofetylu, w drugiej zaś ich interakcje z innymi lekami i zagadnienia dotyczące polimorfizmów genów biorących udział w metabolizmie tych leków oraz wyniki badań ankietowych. Czytając dyskusję widać dobrą znajomość najnowszego piśmiennictwa dotyczącego omawianych zagadnień. Kolega prezentuje poczynione przez siebie obserwacje na tle doniesień innych autorów dokonując trafnej analizy i wyciągając poprawne wnioski. Wszystkie najistotniejsze obserwacje Autor podsumowuje w postaci 4 wniosków końcowych. Są one konsekwentną i jasną odpowiedzią na założone cele, logicznie wynikają z omówienia przeprowadzonych analiz. Poczynione obserwacje są istotne z praktycznego ale i ekonomicznego punktu widzenia, zwłaszcza w zakresie badań polimorfizmu genów i ich wpływu na farmakokinetykę leków immunosupresyjnych. Również obserwacja, że zakres stężeń minimalnych kwasu mykofenolowego między 1,5 a 2,7 µg/mL odpowiada zalecanej ekspozycji ocenianej na podstawie AUC, co pozwala dostosować dawkę mykofenolanu mofetylu w oparciu o pojedynczy pomiar stężenia leku.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Pawła Poznańskiego spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) wymagane na stopień doktora nauk medycznych. Doktorant podjął ważny z punktu widzenia naukowego, ale i klinicznego temat badawczy, sformułował interesujące cele pracy, zastosował właściwe metody umożliwiające ich realizację oraz wykazał umiejętność wszechstronnej analizy uzyskanych wyników w świetle aktualnej wiedzy i właściwego wnioskowania.

Przedstawiam zatem, Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Pawła Poznańskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n med. Ilona Kurnatowska

