

wpł.
dnia 23-09-2024

Wrocl

23-09-2024

L. dz. RN-BM/
1258

Prof. zw. dr hab. med. Jacek Wachowiak
Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
ul. Szpitalna 27/33
60-572 Poznań

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

REZENZJA

rozprawy doktorskiej lek. Karoliny Magdaleny Liszka pt.:
**„Ocena bezpieczeństwa i skuteczności profilaktyki przeciwgrzybiczej pozakonazolem
w oparciu o badania farmakokinetyki leku u dzieci poddanych
intensywnej chemioterapii i/lub przeszczepieniu komórek hematopoetycznych”**

Zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu podjętej w dniu 19 czerwca 2024 r. o powołaniu mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej lek. Karoliny Magdaleny Liszki pt. „Ocena bezpieczeństwa i skuteczności profilaktyki przeciwgrzybiczej pozakonazolem w oparciu o badania farmakokinetyki leku u dzieci poddanych intensywnej chemioterapii i/lub przeszczepieniu komórek hematopoetycznych” mam zaszczyt przedstawić poniższą opinię.

Na przestrzeni kilku ostatnich dekad dokonął się ogromny, wręcz spektakularny postęp w onkologii dziecięcej, czego wyrazem jest ponad 80% trwałych wyleczeń dzieci i młodzieży z chorobą nowotworową. Niestety, nadal ogółem u około 10-20% pacjentów pediatrycznych z chorobą nowotworową podjęte leczenie kończy się niepowodzeniem, którego najczęstszą przyczyną jest wciąż nawrót choroby, ale może być spowodowane również powikłaniem bardzo intensywnej chemioterapii i/lub przeszczepienia komórek krwiotwórczych. Niepowodzenie leczenia spowodowane jego powikłaniami jest, w kontekście bardzo wysokich szans na trwałą remisję choroby, szczególnie dramatycznym zdarzeniem, z którym trudno się pogodzić. Ze względu na towarzyszącą intensywnej terapii nieuniknioną mielosupresję i immunosupresję jej najczęstszymi powikłaniami są zakażenia, spośród których najtrudniejszym i narastającym problemem w onkologii dziecięcej są zakażenia grzybicze. Częstym problemem, chociaż rzadziej zagrażającym życiu niż powikłania infekcyjne, jest także toksyczność narządowa związana przede wszystkim z intensywną chemioterapią i/lub procedurą przeszczepienia komórek hematopoetycznych, ale także z interakcjami lekowymi, których trudno uniknąć w związku z koniecznością stosowania wielolekowej terapii choroby nowotworowej prowadzonej równocześnie z farmakologiczną profilaktyką i leczeniem powikłań leczenia onkologicznego. Stąd, aby zapewnić dalszą poprawę wyników leczenia chorób nowotworowych u dzieci i młodzieży stosowane leczenie powinno być nie tylko coraz bardziej skuteczne, ale także coraz bardziej bezpieczne.

Jednym ze sposobów do osiągnięcia tego celu jest prowadzenie terapii monitorowanej stężeniem leku, zwłaszcza w odniesieniu do tych leków, których farmakokinetyka i ich farmakodynamika nie zostały jeszcze wystarczająco zbadane u pacjentów pediatrycznych. Do takich leków należy między innymi pozakonazol, który obecnie jest często stosowany w profilaktyce i leczeniu zakażeń grzybiczych u dzieci poddawanych intensywnej chemioterapii i/lub przeszczepieniu komórek hematopoetycznych.

W związku z tym podjęcie przez lek. Karolinę Magdalenę Liszkę jako do tematu rozprawy doktorskiej badań bezpieczeństwa i skuteczności profilaktyki przeciwgrzybiczej pozakonazolem w oparciu o badania farmakokinetyki leku u dzieci poddanych intensywnej chemioterapii i/lub przeszczepieniu komórek hematopetycznych należy uznać za w pełni uzasadnione i ważne.

Rozprawa doktorska przedstawiona do oceny liczy ogółem 216 stron i składa się ze spisu treści, wykazu używanych skrótów, wykazu 94 tabel, wykazu 7 rycin, wykazu 22 wykresów, krótkiego wprowadzenia, streszczenia w języku polskim, streszczenia w języku angielskim, części teoretycznej rozprawy, która jest obszernym wstępem do rozprawy, części doświadczalnej rozprawy, w której przedstawione zostały cele pracy i hipotezy badawcze, materiał i metody badań, wyniki badań wraz z ich podsumowaniem, a w dalszej kolejności z dyskusji, wniosków i bibliografii zawierającej 135 pozycji cytowanego piśmiennictwa i dodatkowo także zawiera zestawienie dorobku naukowego Doktorantki, kopię zgody Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badań oraz informację o grantach w ramach, których została zrealizowana rozprawa.

W obszernej „Części teoretycznej” rozprawy doktorskiej został najpierw szczegółowo omówiony problem zakażeń grzybiczych u pacjentów pediatrycznych leczonych intensywną chemioterapią i/lub poddanych transplantacji komórek hematopoetycznych z uwzględnieniem etiologii tych zakażeń, ich diagnostyki oraz pierwotnej i wtórnej profilaktyki, a także aktualnych rekomendacji dotyczących ich leczenia, a następnie podsumowana została dotychczasowa wiedza dotycząca charakterystyki farmakodynamicznej i farmakokinetycznej pozakonazolu, jego działań niepożądanych i toksyczności, a także aktualne wskazania do leczenia pozakonazolem i rekomendacje odnośnie docelowych stężeń osoczowych pozakonazolu. Przedstawiony wstęp do rozprawy świadczy o dużej wiedzy teoretycznej i praktycznej Doktorantki dotyczącej wszystkich aspektów zakażeń grzybiczych i ich leczenia, w tym z użyciem pozakonazolu, u dzieci z chorobą nowotworową leczonych intensywną chemioterapią i/lub przeszczepieniem komórek hematopoetycznych. W tym miejscu należy również wspomnieć o dorobku naukowym Doktorantki, na który składa się ogółem 12 doniesień naukowych, w tym 8 publikacji w czasopismach recenzowanych, w tym 4 w czasopismach z IF i sumarycznym IF wynoszącym 11.714, oraz 4 doniesienia kongresowe, w tym 3 przedstawiane w formie prezentacji ustnej.,

Na tle przedstawionego we „Wstępie” aktualnego stanu wiedzy na temat zakażeń grzybiczych u pacjentów pediatrycznych leczonych onkologicznie i/lub poddawanych przeszczepieniu komórek hematopoetycznych oraz roli pozakonazolu w profilaktyce i leczeniu tych zakażeń sformułowane zostały cele szczegółowe przeprowadzonych badań, a mianowicie - podsumowując je – ocena farmakokinetyki pozakonazolu podawanego dzieciom z grupy badanej w postaci zawiesiny doustnej lub infuzji, ocena wpływu wybranych czynników na stężenia osoczowe pozakonazolu u tych dzieci oraz ocena wpływu stężeń spoza zakresu referencyjnego na skuteczność i ryzyko powikłań toksycznych związanych z podażą pozakonazolu. Nadrzędnym celem końcowym przeprowadzonych badań było wdrożenie terapeutycznego monitorowania stężeń pozakonazolu do codziennej praktyki w celu optymalizacji i indywidualizacji terapii u poszczególnych pacjentów.

Grupę badaną stanowiło ogółem 171 pacjentów w wieku od 1 do 18 lat, z medianą wieku 7 lat, którzy w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu w latach 2020-2023 poddani byli intensywnej chemioterapii i/lub przeszczepieniu komórek hematopoetycznych, a w ramach profilaktyki przeciwgrzybiczej otrzymywali pozakonazol w formie zawiesiny doustnej lub infuzji dożylniej.

W pierwszej fazie, do której włączono 51 pacjentów, w tym 42 z rozpoznaniem onkologicznym i 9 z chorobami nieonkologicznymi, badano profile farmakokinetyczne pozakonazolu oznaczając stężenie leku w osoczu w 4 punktach czasowych, natomiast w drugiej fazie realizacji projektu, do której włączono 120 pacjentów, w tym 91 z rozpoznaniem onkologicznym i 29 z chorobami nieonkologicznymi, osoczowe stężenia leku oznaczano jednorazowo bezpośrednio przed podaniem porannej dawki leku. Materiałem do badań było każdorazowo 0.5 ml krwi pobierane zwykle poprzez cewnik centralny.

Stężenia osoczowe pozakonazolu oznaczano w Laboratorium MonitLab™ w Poznaniu z zastosowaniem metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fluorescencyjną (HPLC-FLD) opracowanej i zwalidowanej przez Spółkę Celową MonitLab™ w ramach grantu Narodowego Centrum Badań i Rozwoju.

Zawiesinę doustną pozakonazolu dawkowano w oparciu o algorytm według Welzen, natomiast roztwór do infuzji dożylniej podawano w pojedynczej dawce dobowej 150 mg lub 300 mg w zależności od masy ciała pacjenta.

W drugiej fazie badania, w przypadkach wymagających modyfikacji dawkowania pozakonazolu w związku z uzyskaniem stężenia leku spoza zakresu referencyjnego, dawkę leku zwiększano lub zmniejszano o około 30% dążąc do optymalizacji stężenia leku. Za docelowe stężenie pozakonazolu w osoczu przyjęto zakres 0,7 – 3,0 mg/L.

Następnie dokonano analizy wpływu wybranych czynników, w tym wieku, płci, rozpoznania leczenia z udziałem przeszczepienia komórek hematopoetycznych lub terapii CART-T, drogi żywienia pacjenta, stężenia albumin w osoczu, spostrzeganej patologii w

przewodzie pokarmowym oraz wybranych leków podawanych równocześnie z pozakonazolem na stężenie tego leku w osoczu, a przez to na bezpieczeństwo i skuteczność leczenia.

Zgody na przeprowadzenie badań udzieliła Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu (nr uchwały 604/2020) pod warunkiem zachowania anonimowości uzyskanych danych.

Przed włączeniem do badania opiekunowie oraz pacjenci powyżej 16 roku życia podpisali formularz świadomej zgody na udział w projekcie.

Projekt badawczy będący podstawą rozprawy doktorskiej został sfinansowany na podstawie odpowiedniej umowy przez Fundację „Na ratunek dzieciom z chorobą nowotworową”, a pierwszy etap projektu, tj. ocena profili farmakokinetycznych pozakonazolu, został zrealizowany przy współfinansowaniu z grantu Narodowego Centrum Badań i Rozwoju, który został przyznany spółce celowej MonitLab™ w celu opracowania efektywnej metody oznaczania stężenia pozakonazolu w osoczu.

Wyniki badań zostały przedstawione na 90 stronach. W I fazie badań wykazano, że stężenie pozakonazolu pozostaje na stabilnym poziomie w ciągu całej doby, a pacjenci najczęściej uzyskują zabezpieczające stężenie leku w całym przedziale czasowym pomiędzy kolejnymi podażami dawek leku.

Najczęstszym problemem zidentyfikowanym w I fazie badań, u blisko połowy badanych chorych otrzymujących pozakonazol doustnie, było stężenie leku poniżej zakresu referencyjnego, które może wiązać się z nieskutecznym postępowaniem profilaktycznym, jednak w trakcie realizacji projektu tej zależności nie zaobserwowano. Natomiast w grupie dzieci otrzymujących pozakonazol dożylnie nie odnotowano problemu zbyt niskiego stężenia leku w osoczu, natomiast stężenia przekraczające górną granicę przedziału referencyjnego były częstsze niż u dzieci otrzymujących pozakonazol doustnie, u których zbyt wysokie stężenie pozakonazolu spostrzegano tylko sporadycznie. U dzieci ze zbyt wysokim stężeniem osoczym pozakonazolu nie zaobserwowano wykładników toksyczności tego leku. Ponadto u żadnego z 51 pacjentów włączonych do pierwszej części badania nie rozpoznano prawdopodobnego lub potwierdzonego inwazyjnego zakażenia grzybiczego w okresie badania.

Analiza parametrów farmakokinetycznych wykazała istotny wpływ drogi podania pozakonazolu nie tylko na stężenie leku w osoczu, ale także na pole powierzchni pod krzywą zależności stężenia leku od czasu (AUC_{0-t}), a mianowicie pacjenci otrzymujący lek dożylnie wykazywali zdecydowanie wyższe wartości AUC_{0-t} , co oznacza, że całkowita ekspozycja na lek podany dożylnie, a także skuteczność terapii dożylnej jest wyższa. Nie wykazano wpływu drogi podania leku na czas potrzebny do osiągnięcia stężenia maksymalnego.

Ponadto przeprowadzona analiza wykazała, że niższe stężenia maksymalne i średnie pozakonazolu oraz niższe wartości $AUC_{0-\infty}$ występują u pacjentów z hipoalbuminemią, a także u pacjentów otrzymujących ondansetron lub lewetiracetam.

Natomiast nie wykazano istotnego wpływu na badane parametry farmakokinetyczne pozakonazolu pozostałych badanych zmiennych, w tym rozpoznania, wieku, płci, leczenia z udziałem HSCT lub komórek CAR-T, żywienia pozajelitowego, wykładników uszkodzenia błony śluzowej przewodu pokarmowego oraz leków innych poza wyżej wymienionymi stosowanych u badanych pacjentów równocześnie z pozakonazolem.

W I części badania wykazano również, że osoczowe stężenie pozakonazolu oznaczone w punkcie czasowym C_0 u pacjentów, którzy osiągnęli docelowe wartości stężenia leku koreluje z jego stężeniami w pozostałych punktach czasowych. Stąd wniosek, że stężenie pozakonazolu we krwi pobranej w punkcie C_0 w kolejnych dniach jego podaży dobrze odzwierciedla ogólną ekspozycję pacjenta na ten lek.

W drugiej części projektu oznaczano stężenie pozakonazolu w jednym punkcie czasowym – tuż przed podaniem porannej dawki leku w przypadku podaży doustnej lub przed rozpoczęciem infuzji w przypadku podaży dożylniej. U większości dzieci (115 chorych) pozakonazol podawano w postaci zawiesiny doustnej, jedynie 5 pacjentów otrzymywało lek w postaci roztworu do infuzji. Wyniki oznaczeń prezentowały się podobnie jak w przypadku wyznaczania pełnych profili farmakokinetycznych leku w I części badania. Mianowicie, u 61 chorych uzyskano zadowalające stężenie pozakonazolu w osoczu, jednak aż 59 badanych wymagało modyfikacji dawkowania z powodu nieprawidłowego stężenia leku w osoczu. Dawkę pozakonazolu zmodyfikowano u 26 pacjentów, a modyfikacja okazała się skuteczna u 13 chorych (50%).

Ponadto zbadano wpływ wybranych czynników, często współistniejących z podażą pozakonazolu, na stężenie tego leku w osoczu i na podstawie przeprowadzonej analiz stwierdzono występowanie wyższych stężeń pozakonazolu u chorych przyjmujących hydrokortyzon, natomiast występowanie niższych stężeń pozakonazolu u pacjentów otrzymujących metyloprednizolon, inhibitor pompy protonowej lub ryfampicynę, a także u pacjentów żywionych parenteralnie, u pacjentów leczonych z udziałem przeszczepienia komórek hematopoetycznych oraz u pacjentów z biegunką, jako wykładnikiem uszkodzenia błony śluzowej przewodu pokarmowego. Ponadto stwierdzono, że hipoalbuminemia w zależności od stopnia jej nasilenia może predysponować zarówno do zbyt niskich, jak i zbyt wysokich stężeń pozakonazolu w osoczu. Nie stwierdzono natomiast różnic w stężeniach pozakonazolu w zależności od rozpoznania, wieku, płci, stosowania terapii CAR-T i innych niż biegunka objawów chorobowych ze strony przewodu pokarmowego. Ponadto w badanej grupie dzieci nie odnotowano działań niepożądanych, które można byłoby bezpośrednio powiązać z podażą pozakonazolu.

W oparciu o uzyskane wyniki przesiewowych testów statystycznych podjęto próbę zbudowania modelu regresji logistycznej, który w oparciu o dane kliniczne przewidywałby szansę wystąpienia nieterapeutycznego stężenia pozakonazolu. Wykazano, że skonstruowany model charakteryzuje się wprawdzie niską, co najprawdopodobniej związane jest z niską liczebnością próby, ale wciąż zadowalającą dobrocią dopasowania.

Omówienie wyników badań jest szczegółowe i jednocześnie klarowne, a zapoznanie się z wynikami ułatwiają liczne dobrze skonstruowane i starannie wykonane tabele, ryciny i wykresy ilustrującym rezultaty badań.

W pierwszej części „Dyskusji” własne wyniki monitorowania stężenia terapeutycznego pozakonazolu umiejętnie i w interesujący sposób odniesiono do wyników opublikowanych przez innych autorów, zwracając przy tym szczególną uwagę na fakt, że takie badania po raz pierwszy przeprowadzono u najmłodszych pacjentów pediatrycznych poniżej 8 roku życia oraz na to, że aż u około połowy badanych dzieci stężenia pozakonazolu były suboptymalne. To ostatnie spostrzeżenie skłoniło do podjęcia interwencji terapeutycznej, którą, a także jej wyniki, porównano w „Dyskusji” z interwencjami i ich rezultatami podejmowanymi przez innych autorów.

W drugiej części „Dyskusji” spostrzeżenia własne dotyczące wpływu wybranych czynników związanych z chorym i stosowanym leczeniem na stężenie osoczowe pozakonazolu skonfrontowano z podobnymi obserwacjami dokonanymi przez innych autorów.

W trzeciej części „Dyskusji” zwrócono uwagę na pacjentów z najwyższym ryzykiem wystąpienia niezabezpieczającego stężenia pozakonazolu, do których na podstawie własnych obserwacji zaliczono dzieci poniżej drugiego roku życia, pacjentów z pierwotnym niedoborem odporności przyjmujących ryfampicynę w profilaktyce gruźlicy, pacjentów po allogeniczej transplantacji komórek hematopoetycznych z GvHD leczoną metyloprednizolonem oraz dzieci poddane terapii CAR-T otrzymujące lewetiracetam w profilaktyce drgawek towarzyszących neurotoksyczności związanej z w/w terapią. U wymienionych pacjentów w przypadku stwierdzenia bardzo niskich stężeń pozakonazolu Doktorantka zaproponowała rozważenie zmiany rodzaju profilaktyki przeciwgrzybiczej w celu zapewnienia skutecznej ochrony przed rozwojem grzybicy inwazyjnej. Należy podkreślić, że Doktorantka jako pierwsza zaobserwowała i opisała występowanie niskich stężeń pozakonazolu w trakcie podaży lewetiracetamu u dzieci po terapii CAR-T.

Ostatnią część „Dyskusji” stanowi omówienie ograniczeń, z którymi musiały zmierzyć przeprowadzone badania, a wśród nich Doktorantka wymienia duże zróżnicowanie pacjentów, zmienność sytuacji klinicznej, jednośrodkowy charakter badania, a także brak badań polimorfizmu genetycznego dotyczącego genów kodujących enzymy metabolizujące.

Sposób w jaki Doktorantka przeprowadziła „Dyskusję” świadczy o bardzo dobrym opanowaniu umiejętności przedstawiania wyników badań naukowych oraz myślenia naukowego, a co za tym idzie o dojrzałości naukowej Doktorantki. Ponadto w „Dyskusji” zostały umiejętnie podkreślone własne oryginalne spostrzeżenia.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań Doktorantka sformułowała trzy wnioski, spośród których dwa pierwsze podsumowują uzyskane wyniki oraz dokumentują realizację głównego celu badań, którym była poprawa skuteczności i bezpieczeństwa profilaktyki przeciwgrzybiczej pozakonazolem poprzez zastosowanie terapeutycznego monitorowania stężenia leku u pacjentów pediatrycznych leczonych intensywną chemioterapią i/lub poddawanych przeszczepieniu. W trzecim wniosku, odnosząc się do uzyskanych wyników badań i spostrzeżeń dokonanych podczas realizacji projektu, Doktorantka wskazuje na potrzebę dalszych badań dotyczących optymalnego sposobu dawkowania pozakonazolu i docelowego stężenia tego leku, które objęłyby większą liczbę dłużej obserwowanych pacjentów.

W trakcie oceny niniejszej rozprawy doktorskiej recenzentowi nie nasunęły się żadne istotne uwagi krytyczne dotyczące realizacji lub treści ocenianej rozprawy, poza uwagą dotyczącą braku w części rozprawy zatytułowanej „Materiały i metody” zbiorczego omówienia zastosowanych metod analizy statycznej.

Reasumując, rozprawę doktorską lek. Karoliny Liszka oceniam bardzo wysoko. Stanowi ona oryginalne opracowanie zagadnienia ważnego dla onkohematologii dziecięcej. Uzyskane wyniki badań mają duże znaczenie poznawcze, ale przede wszystkim bardzo duże znaczenie kliniczne, ponieważ powinny przyczynić do poprawy bezpieczeństwa pacjentów pediatrycznych poddawanych intensywnej chemioterapii i/lub allogenicznemu przeszczepieniu komórek hematopoetycznych poprzez prowadzenie skuteczniejszej profilaktyki przeciwgrzybiczej z zastosowaniem pozakonazolu, a poprzez to do poprawy odległych wyników leczenia. Praca opiera się na wynikach badań przeprowadzonych w stosunkowo dużej grupie dzieci i młodzieży z chorobami onkologicznymi i nieonkologicznymi, a zastosowana innowacyjna metodyka badań osoczowych stężeń pozakonazolu jest właściwa i może być wykorzystana w praktyce klinicznej. Wyniki badań zostały prawidłowo i bardzo starannie opracowane. Omówienie wyników i dyskusja poparte są obszernym współczesnym piśmiennictwem, inspirują do dalszych badań i świadczą o znakomitym przygotowaniu Doktorantki do podjętego tematu badań. Wnioski znajdują odzwierciedlenie w wynikach.

Stąd, uważam, że rozprawa doktorska lek. Karoliny Liszka spełnia wszystkie warunki stawiane pracom doktorskim określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668) i zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z wnioskiem

o dopuszczenie lek. Karoliny Liszki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wzięwszy pod uwagę nowatorski charakter podjętych badań, sposób ich realizacji i znaczenie wyników badań uzyskanych w trakcie realizacji rozprawy wnioskuję o jej wyróżnienie.

Poznań, 18 września 2024 r.



Prof. zw. dr hab. med. Jacek Wachowiak