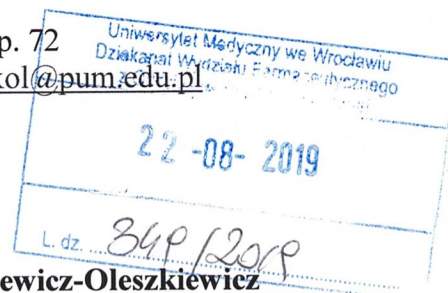




Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

**Zakład Farmakokinytyki i Terapii Monitorowanej
Katedra Farmakologii**

70-111 Szczecin, al. Powstańców Wlkp. 72
tel. 91 466 15 89, fax 91 466 16 00, email: farmakol@pum.edu.pl



Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr farm. Beaty Sienkiewicz-Oleszkiewicz

pt. „Kliniczne znaczenie badań farmakogenetycznych w optymalizacji profilaktyki przeciwgrzybiczej worykonazolem i posakonazolem u chorych onko-hematologicznie po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych”

wykonanej pod kierunkiem Promotora Pani prof. dr hab. Anny Wiela-Hojeńskiej

w Katedrze i Zakładzie Farmakologii Klinicznej Wydziału Farmaceutycznego

Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Przedłożona do oceny rozprawa na stopień doktora nauk farmaceutycznych dotyczy oceny wybranych czynników genetycznych, które mogą mieć wpływ na bezpieczeństwo i skuteczność profilaktyki przeciwgrzybiczej worykonazolem i posakonazolem u chorych onko-hematologicznie po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT). Podjęcie niniejszego tematu badawczego, uważam za niezwykle ważne z punktu widzenia nauk farmaceutycznych i medycznych oraz w pełni uzasadnione. Badania te wpisują się w światowe trendy działań na rzecz indywidualizacji farmakoterapii. Wykazano, że profilaktyka przeciwgrzybicza i dokładne monitorowanie dalszego leczenia, zmniejsza śmiertelność i ryzyko rozwoju inwazyjnego zakażenia grzybiczego u chorych po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych. W profilaktyce inwazyjnych zakażeń grzybiczych u pacjentów z grup podwyższonego ryzyka, do których zalicza się także dzieci poddawane allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych, zalecane są triazolowe leki przeciwgrzybicze nowej generacji, takie jak: posakonazol i worykonazol, charakteryzujące się większą skutecznością w porównaniu z innymi azolowymi lekami przeciwgrzybiczymi. Z powodu licznych działań niepożądanych, racjonalna terapia posakonazolem i worykonazolem powinna uwzględniać właściwości

farmakokinetyczne tych leków, które mogą wpływać na osobniczo zmienną odpowiedź na lek, wystąpienie niepożądanych interakcji z innymi stosowanymi lekami i prowadzić do wystąpienia objawów toksycznych lub nieskutecznej terapii. Do czynników wpływających na procesy farmakokinetyczne należą m.in. czynniki genetyczne, głównie polimorfizm genów kodujących enzymy metabolizujące leki lub transportery dla leków. Poznanie i uwzględnienie czynników genetycznych w profilaktyce przeciwgrzybiczej worykonazolem i posakonazolem u dorosłych i dzieci chorych onko-hematologicznie poddanych allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych może się przyczynić do zwiększeniu skuteczności i bezpieczeństwa tej terapii. Dlatego też temat badawczy podjęty przez Doktorantkę należy uznać za w pełni aktualny. Badania są nowatorskie, szczególnie te, dotyczące oceny wpływu polimorfizmu genu *ABCB1* na skuteczność i bezpieczeństwo profilaktyki przeciwgrzybiczej posakonazolem. Wyniki tych badań mają znaczenie praktyczne.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Beaty Sienkiewicz-Oleszkiewicz została przygotowana na podstawie 5 publikacji: 2 poglądowych i 3 oryginalnych, opublikowanych w języku angielskim w czasopismach o zasięgu międzynarodowym w latach 2016-2019. Cztery publikacje, w tym 1 poglądowa ukazały się w czasopismach z listy filadelfijskiej. Ich sumaryczny współczynnik oddziaływania wynosi (IF) 6,707, a punktacja MNiSW wszystkich 5 publikacji - 89. We wszystkich publikacjach Kandydatka jest pierwszym autorem i autorem do korespondencji. Według załączonych oświadczeń współautorów tych prac, wkład Kandydatki w ich przygotowanie wynosił nie mniej niż 60%. Na podstawie przedstawionej dokumentacji należy stwierdzić, że indywidualny wkład Doktorantki w przygotowanie artykułów stanowiących Jej rozprawę doktorską był zasadniczy. Opublikowane badania realizowano w ramach działalności statutowej Katedry i Zakładu Farmakologii Klinicznej oraz w ramach promotorskiego projektu badawczego dla młodych naukowców, w którym Kandydatka była wykonawcą.

Przedłożona do oceny rozprawa (oprócz publikacji zamieszczonych w rozdziale 13), zawiera wstęp, omówienie przedmiotu badań i celów pracy, charakterystykę badanych osób, krótki opis zastosowanych metod analitycznych, wyniki, dyskusję oraz wnioski. Dodatkowo zawiera spis piśmiennictwa, które nie zostało uwzględnione w opublikowanych pracach, streszczenia w języku polskim i angielskim, spis tabel i rycin oraz 3 załączniki: nr 1 - Charakterystyka pacjentów włączonych do badania wpływu genotypu *CYP2C19* na bezpieczeństwo i skuteczność profilaktyki worykonazolem; nr 2 - Charakterystyka pacjentów włączonych do badania wpływu genotypu *ABCB1* na bezpieczeństwo i skuteczność profilaktyki

posakonazolem; nr 3 - Ankieta niepożądanych działań posakonazolu skierowana do pacjentów/ich opiekunów. Załączniki nr 1 i 2 stanowiły protokoły obserwacyjne służące do monitorowania niepożądanych działań worykonazolu i posakonazolu. Zostały bardzo szczegółowo opracowane. Na szczególne wyróżnienie zasługuje samodzielnie opracowana i zwalidowana oryginalna ankieta (załącznik nr 3) skierowana do opiekunów prawnych dzieci, dotycząca subiektywnie odczuwanych przez leczone dzieci działań niepożądanych posakonazolu, która pozwoliła na zebranie informacji dotyczących oceny satysfakcji z prowadzonej profilaktyki przeciwgrzybiczej.

We wstępie Doktorantka przedstawiła, zgodnie z najnowszą literaturą, epidemiologię i czynniki ryzyka występowania zakażeń grzybiczych oraz wytyczne do stosowania posakonazolu i worykonazolu nie tylko u dorosłych, ale również u dzieci z grup podwyższonego ryzyka. Szczegółowo opisała właściwości farmakodynamiczne, wskazania i przeciwwskazania do stosowania tych leków. Zwróciła uwagę na liczne działania niepożądane worykonazolu ujawniające się podczas przedłużającego się leczenia, co zaobserwowała także w badaniach własnych. Szczegółowo opisała właściwości farmakokinetyczne worykonazolu i posakonazolu z uwzględnieniem czynników genetycznych wpływających na procesy farmakokinetyczne tych leków. Opisała polimorfizm izoenzymu CYP2C19, który bierze udział w utlenianiu worykonazolu. Omawiając farmakokinetykę posakonazolu, Kandydatka zwróciła uwagę na polimorfizm transportera P-glikoproteiny, kodowanej przez gen *ABCB1*, który może mieć znaczenie we wchłanianiu tego leku i wpływać na efekt leczenia. Doniesienia na temat bezpieczeństwa przewlekłej terapii posakonazolem są niejednoznaczne. Badania dotyczące wpływu polimorfizmu *ABCB1* na skuteczność i bezpieczeństwo farmakoterapii posakonazolem nie były dotąd prowadzone. Większość danych zwarta we wstępie rozprawy została przedstawiona przez Autorkę w 2 pracach poglądowych: Comparison of clinical pharmacology of voriconazole and posaconazole opublikowanej w *Contemp Oncol* 2016; 20(5); 365-373 oraz CYP2C19 polymorphism in relations to the pharmacotherapy optimization of commonly used drugs przedstawionej w *Pharmazie* 2018; 73; 619-624.

Na szczególne wyróżnienie zasługuje wyjątkowa staranność w przygotowaniu tej rozprawy. Pomimo, że większość zagadnień, tabel i rycin została opublikowana w załączonych artykułach, Kandydatka przedstawiła je zgodnie z wymogami rozpraw doktorskich. Cele pracy zostały sformułowane prawidłowo i powiązane z wnioskami. Spis piśmiennictwa obejmuje 73 odpowiednio dobrane i cytowane pozycje polskie i anglojęzyczne, oprócz pozycji piśmiennictwa zawartych w każdej opublikowanej pracy. Na

przeprowadzenie badań otrzymano zgodę Komisji Bioetycznej działającej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu.

Do tej części mam następujące uwagi: w tabeli 8 w opublikowanej pracy pt.: Comparison of clinical pharmacology of voriconazole and posaconazole, a w rozprawie doktorskiej – tabela 3 str. 16, w której porównano farmakologię kliniczną worykonazolu i posakonazolu, w rubryce dotyczącej metabolizmu posakonazolu umieszczono UDP-glukuronylotransferazę i P-glikoproteinę. P-glikoproteina jest białkiem transportującym leki przez błony biologiczne. Kodowana jest przez gen *ABCB1*, który wykazuje polimorfizm genetyczny. P-gp występuje m.in. w ścianie jelita i może mieć wpływ na wchłanianie leku podanego drogą przewodu pokarmowego i jego dostępność biologiczną. W tabeli tej podano także parametr farmakokinetyczny tzw. „czas maksymalny”, uważam, że powinno być użyte określenie: „czas po którym obserwowane jest stężenie maksymalne” lub „czas wystąpienia stężenia maksymalnego”.

W oparciu o przesłanki zawarte we wstępie i w 2 pracach poglądowych Doktorantka sformułowała cztery następujące cele pracy doktorskiej: 1) ocena znaczenia genotypu *CYP2C19* w zwiększeniu bezpieczeństwa profilaktyki przeciwgrzybiczej worykonazolem u dorosłych z chorobami onko-hematologicznymi po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych; 2) identyfikacja czynników ryzyka występowania niepożądanych działań worykonazolu u dorosłych chorych onko-hematologicznie poddanych allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych; 3) zbadanie związku między genetycznie uwarunkowaną osobniczą różnicą częstości występowania mutacji *C3435T* w genie *ABCB1* a skutecznością i bezpieczeństwem profilaktyki przeciwgrzybiczej posakonazolem u dzieci z chorobami onko-hematologicznymi poddanych allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych oraz 4) identyfikacja czynników ryzyka występowania niepożądanych działań posakonazolu u dzieci chorych onko-hematologicznie poddanych allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych.

Dla zrealizowania postawionych celów Doktorantka przeprowadziła badania farmakogenetyczne i analizę niepożądanych działań u 100 pacjentów, w tym 30 dorosłych chorych onko-hematologicznie poddanych allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych hospitalizowanych w Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, u których stosowano profilaktykę przeciwgrzybiczą worykonazolem w okresie okołoprzeszczepowym oraz u 70 dzieci leczonych z powodu chorób onko-hematologicznych po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek

macierzystych w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu. U dorosłych oceniano wpływ polimorfizmu genu *CYP2C19* na bezpieczeństwo profilaktyki worykonazolem, a u dzieci związek pomiędzy polimorfizmem genu *ABCB1* a skutecznością i bezpieczeństwem profilaktyki posakonazolem.

W pracy zastosowano odpowiednie metody analityczne PCR-RFL. Do monitorowania obiektywnych niepożądanych działań worykonazolu i posakonazolu wykorzystano opracowane bardzo szczegółowo protokoły obserwacyjne (załączniki 1 i 2). Z rozprawy nie wynika czy protokoły obserwacyjne zostały przygotowane przez Doktorantkę czy są stosowane na oddziale w praktyce klinicznej?

Do analizy subiektywnych niepożądanych działań posakonazolu odczuwanych u dzieci wykorzystano samodzielnie opracowaną ankietę skierowaną do opiekunów prawnych dzieci (załącznik 3). Na czym polegała walidacja tej ankiety? Uzyskane wyniki poddano prawidłowej analizie statystycznej.

Należy stwierdzić, że sposób zaplanowania badań oraz ich realizacja świadczą o bardzo dobrym merytorycznym przygotowaniu Doktorantki. Bardzo pozytywnie oceniam zakres prac badawczych ze względu na ich charakter nie tylko poznawczy, ale również praktyczny. Bardzo wysoko oceniam opracowanie i przedstawienie uzyskanych wyników w postaci tabel i rycin.

Po przeprowadzeniu zaplanowanych badań Autorka wykazała m.in., że osoby z co najmniej jedną kopią allelu *CYP2C19*2* są bardziej narażone na wystąpienie niepożądanych działań podczas profilaktyki przeciwgrzybiczej worykonazolem, w porównaniu z nosicielami alleli *17. Ustalenie genotypu *CYP2C19* przed rozpoczęciem profilaktyki przeciwgrzybiczej może stanowić przydatne narzędzie do optymalizacji leczenia worykonazolem pacjentów onko-hematologicznych. Te oryginalne obserwacje zostały opublikowane w czasopiśmie z listy filadelfijskiej o wysokim współczynniku oddziaływania (IF=3,282) - J Cancer Res Clin Oncol w pracy pt.: „Influence of *CYP2C19*2/*17* genotype on adverse drug reactions of voriconazole in patients after allo-HSCT: a four-case report”. Analizę częstości występowania niepożądanych działań worykonazolu w zależności od wariantów genu *CYP2C19* opublikowano w czasopiśmie z listy filadelfijskiej Pathol Oncol Res 2018; 24; 3; 541-545 (IF=1,935) w pracy pt.: „Influence of *CYP2C19* genotypes on the occurrence of adverse drug reactions of voriconazole among hematological patients after allo-HSCT”.

W grupie dzieci leczonych posakonazolem, Doktorantka nie wykazała istotnego wpływu polimorfizmu genu *ABCB1* na częstość występowania niepożądanych działań

podczas profilaktycznej terapii przeciwgrzybiczej tym lekiem. Zaobserwowano jednak tendencję do wydłużenia APTT u nosicieli wariantu 3435TT. Dobrą skuteczność i tolerancję na stosowany posakonazol wykazało dwoje dzieci z wariantem 3435CC, co może wskazywać na jego znaczenie ochronne. Te oryginalne obserwacje zostały opublikowane po raz pierwszy i wymagają potwierdzenia, jak słusznie napisała Autorka, na znacznie większej grupie badanych dzieci. Istotny wpływ na częstość występowania niektórych działań niepożądanych miał wiek dziecka i równoczesne stosowanie innych leków. Bardzo szczegółową analizę częstości występowania niepożądanych działań posakonazolu w zależności o genotypu *ABCB1* opublikowano w pracy pt.: „Factors influencing the safety and efficiency of antifungal prophylaxis with posaconazole in children with hematological diseases: from genetics to polypharmacotherapy” w czasopiśmie z listy filadelfijskiej *Indian J Hematol Blood Transfus* (IF=0,474).

Dyskusja przedstawionej do oceny pracy świadczy o szerokiej wiedzy Doktorantki w zakresie zagadnień będących przedmiotem Jej rozprawy doktorskiej. Zawarte w dyskusji informacje w sposób rzeczowy i wiarygodny porównują uzyskane wyniki z danymi z piśmiennictwa oraz z dostępnymi danymi klinicznymi, które mogły mieć wpływ na uzyskane wyniki. Na podstawie przeprowadzonych badań Autorka przedstawiła cztery wnioski, które są zgodne z celami pracy i uzyskanymi wynikami. Sformułowane przez Doktorantkę wnioski wynikają bezpośrednio z analizy wyników uzyskanych w czasie realizacji badań.

Reasumując należy stwierdzić, że cel pracy został w pełni zrealizowany, a uzyskane wyniki są oryginalnym osiągnięciem Autorki, która dobrze opanowała niełatwy warsztat badawczy i wykazała dobre merytoryczne przygotowanie. Wykazała się ogólną wiedzą teoretyczną i umiejętnością prowadzenia pracy naukowej. Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jakim było poznanie wpływu wybranych czynników genetycznych na skuteczność i bezpieczeństwo profilaktyki przeciwgrzybiczej worykonazolem u dorosłych i posakonazolem u dzieci po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych.

Uważam, że praca stanowi znaczący dorobek z elementami nowości naukowych i w pełni odpowiada wymogom stawianym pracom doktorskim. Dlatego też zwracam się do Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr farm. Beaty Sienkiewicz-Oleszkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej oraz spełnienie wszystkich warunków, zawartych w regulaminie wyróżniania rozpraw doktorskich obowiązującym na Wydziale

Farmaceutycznym z Oddziałem Analityki Medycznej UM we Wrocławiu, stawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr farm. Beaty Sienkiewicz-Oleszkiewicz.

Szczecin, 11 sierpień 2019 r.

KIEROWNIK
Zakładu Farmakokinetyki
i Terapii Monitorowanej


prof. dr hab. Barbara Gawrońska-Szklarz

