



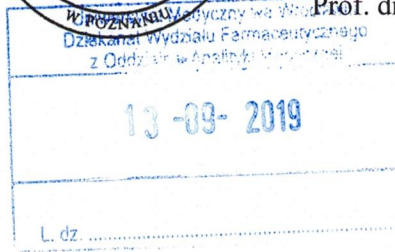
ul. Św. Marii Magdaleny 14
61-861 Poznań

tel. 061 852 90 57

fax 061 852 90 57 w. 55

e-mail: grzesko@ump.edu.pl

Prof. dr hab. Edmund Grześkowiak



Poznań, 22. 08. 2019 r.

Recenzja

Pracy doktorskiej Pani mgr farm. Beaty Magdaleny 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 Pani prof. dr hab. Anny Wiela - Hojeńskiej w Katedrze i Zakładzie Farmakologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Mimo olbrzymiego postępu wiedzy medycznej, inwazyjne zakażenia grzybicze (IZG), należące do typowych zakażeń oportunistycznych, są nadal niezwykle istotnym problemem klinicznym, rzutującym na skuteczność terapeutyczną i bezpieczeństwo pacjentów, leczonych z powodu nowotworów układu krwiotwórczego chemioterapią bądź poddawanych transplantacji allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych.

W populacji pacjentów hematoonkologicznych, wśród czynników predysponujących do występowania infekcji grzybiczych najczęściej wymienia się między innymi: przeszczepianie allogenicznych komórek krwiotwórczych, neutropenię i limfopenię, chemioterapię i/lub radioterapię, leczenie glikokortykosteroidami oraz innymi lekami o działaniu limfocytotoksycznym, niepożądane reakcje zachodzące w organizmie biorcy pod wpływem wprowadzonych obcych antygenów limfocytów (GVHD), a także zakażenia wirusem cytomegalii.

Trudności diagnostyczne IZG, związane z ich mało charakterystycznym obrazem klinicznym, podobnym w początkowej fazie do zakażeń wirusowych czy bakteryjnych sprawiają, że stany te rozpoznawane są często w bardzo zaawansowanym stadium, co rzutuje na gorsze efekty leczenia. Pomimo stosowania coraz nowszych i skuteczniejszych leków przeciwgrzybiczych, śmiertelność z powodu IZG jest w dalszym ciągu bardzo wysoka i

wynosi 25–64%. Zgodnie z cytowanymi przez Doktorantkę danymi epidemiologicznymi, w Polsce, najczęściej identyfikowanymi na oddziałach intensywnej terapii (30,8%), chirurgicznych (29,5%) i onko-hematologicznych (15,9%) są zakażenia wywoływane inwazyjnymi kandydozami, których śmiertelność w ciągu 30 dni wynosi 37 % natomiast częstość występowania w Polsce aspergiloz szacowana jest na 13,8 przypadków/1 mln mieszkańców, z ogólną, 12 % śmiertelnością pacjentów hospitalizowanych na oddziałach pulmonologicznych (22,6%), onko-hematologicznych (12%), torakochirurgicznych (10 %) i chorób wewnętrznych (5,3%).

Opisywane w fachowym piśmiennictwie obserwacje kliniczne wskazują, że zmniejszenie śmiertelności z powodu IZG szczególnie na oddziałach hematoonkologicznych i chirurgicznych może być efektem wdrażania monitorowania/personalizowania prowadzonej farmakoterapii oraz stosowania profilaktyki przeciwgrzybiczej prowadzonej z wykorzystaniem triazolowych leków p-grzybiczych tj. worykonazolu i posakonazolu.

Z przytoczonych wyżej względów cele niniejszej pracy doktorskiej, którymi była ocena znaczenia genotypu *CYP2C19* w zwiększaniu bezpieczeństwa profilaktyki przeciwgrzybiczej worykonazolem oraz identyfikacja czynników ryzyka występowania działań niepożądanych tego leku u dorosłych z chorobami onko-hematologicznymi po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych, a także badanie związku między genetycznie uwarunkowaną, osobniczą różnicą częstości występowania mutacji *C3435T* w genie *ABCB1* i skutecznością oraz bezpieczeństwem profilaktyki przeciwgrzybiczej posakonazolem u dzieci z chorobami onko-hematologicznymi poddanych allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych jak również identyfikacja czynników ryzyka występowania działań niepożądanych posakonazolu w badanej populacji jest uzasadniony względami zarówno teoretycznymi jak i kliniczno-aplikacyjnymi., a zakres przeprowadzonych badań i uzyskane wyniki doskonale wpisują w niezwykle ważny i innowacyjny obszar wiedzy medycznej, dotyczący optymalizacji bezpieczeństwa terapeutycznego pacjentów onkologicznych.

W liczącym 9 stron Wstępie, cytując najnowsze piśmiennictwo, Doktorantka omawia epidemiologię zakażeń grzybiczych, klasyfikując czynniki ich występowania związane z pacjentem, występującymi stanami chorobowymi, hospitalizacją i wdrożonymi procedurami leczniczymi o różnym stopniu inwazyjności, chemio, radio i farmakoterapią oraz właściwości farmakodynamiczne i farmakokinetyczne worykonazolu i posakonazolu.

Uzupełnieniem, co jest całkowicie uzasadnione, syntetycznie przedstawionych przez Doktorantkę informacji wstępnych są włączone do niniejszej dysertacji prace pogładowe, w których wyczerpująco omówiono farmakologię kliniczną obu leków p-grzybiczych (Contemp. Oncol. 2016, 20(5), 365-373) oraz wpływ polimorfizmu izoenzymu CYP2C19 na optymalizację farmakoterapii najczęściej stosowanych leków, ze szczególnym uwzględnieniem leków p-grzybiczych (Pharmazie 2018, 73(11), 619-624).

Ta część rozprawy doktorskiej, świadcząca o dużej wiedzy, bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym i orientacji Doktorantki w najnowszym piśmiennictwie naukowym, znakomicie wprowadza czytelnika w tematykę badawczą pracy, potwierdzając jednocześnie przydatność publikacji artykułów pogładowych w danej tematyce.

W celu realizacji zasadniczego celu badań, Doktorantka badała wpływ genotypów CYP2C19 na występowanie działań niepożądanych worykonazolu u dorosłych z zdiagnozowanymi chorobami onko-hematologicznymi, poddanych allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych, wpływ polimorfizmu genu ABCB1 na występowanie działań niepożądanych posakonazolu u pacjentów pediatrycznych, poddanych allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych, a także badała związek między genetycznie uwarunkowaną osobniczą różnicą częstości występowania mutacji C3435T w genie ABCB1 a skutecznością i bezpieczeństwem zastosowanej profilaktyki p-grzybiczej.

Do zaakceptowanych przez Komisję Bioetyczną UM we Wrocławiu badań farmakogenetycznych zakwalifikowano 30 pacjentów dorosłych (19 mężczyzn i 11 kobiet, w wieku 22-66 l), hospitalizowanych w Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku z powodu ostrej białaczki szpikowej, ostrej białaczki limfoblastycznej, zespołu mielodysplastycznego, anemii aplastycznej, szpiczaka plazmocytozy, chłoniaka nieziarniczego i zespołu mieloproliferacyjnego oraz 70 dzieci (43 chłopców i 27 dziewczynek, w wieku od 2 miesięcy do 18 l) pacjentów Kliniki Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. Jana Mikulicza-Radeckiego we Wrocławiu, hospitalizowanych z powodów: ostrej białaczki szpikowej, ostrej białaczki limfoblastycznej, anemii aplastycznej, zespołu Wiskotta-Aldricha, zespołów mielodysplastycznych, leukodystrofii, lizosomalnych chorób spichrzeniowych, ciężkich złożonych niedoborów odporności, wrodzonej neutropenii czy zespołu hemofagocytarnego.

Materiał badawczy do zaplanowanych badań genetycznych stanowiły próbki krwi pełnej, pobieranej na antykoagulant (wersenian sodowo-potasowy). DNA izolowano przy pomocy standardowego zestawu QIAamp®DNA Blood Mini Kit firmy Qiagen, natomiast polimorfizm genu CYP 2C19 i C3435T w eksonie 26 genu ABCB1 określano za pomocą opisanych w literaturze metod PCR-RFLP.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu STATISTICA statistical software oraz komputerowych pakietów programów statystycznych EPINFO Ver. 7.1.1.14. Dobór i wykorzystanie zastosowanych metod i narzędzi badawczych nie budzi merytorycznych zastrzeżeń.

Bardzo ważnym uzupełnieniem, z punktu widzenia kompleksowej interpretacji uzyskanych wyników badań farmakogenetycznych są szczegółowe, zebrane przy pomocy autorskich protokołów obserwacyjnych, informacje dotyczące między innymi charakterystyki danego pacjenta (wiek, płeć BMI), zdiagnozowanej jednostki chorobowej i jej leczenia, oznaczonych parametrów biochemicznych, wystąpienia ewentualnego zakażenia grzybiczego i jego farmakoterapii, niepożądanych zdarzeń i działań, a także potencjalnych interakcji jak również subiektywnie odczuwanych przez pacjentów pediatrycznych działań niepożądanych posakonazolu i oceny satysfakcji z wdrożonej profilaktyki p-grzybiczej.

Przeprowadzone eksperymenty pozwoliły jednoznacznie wnioskować o przydatności ustalenia genotypu CYP2C19 przed wdrożeniem profilaktyki p-grzybiczej worykonazolem u pacjentów dorosłych, a obserwowane w tej grupie zwiększenie narażenia na wystąpienie niepożądanych działań tego leku związane jest występowaniem co najmniej jednej kopii allelu *2 odpowiadającego za utratę funkcji enzymatycznej w porównaniu z osobami posiadającymi kopie allelu *17, skutkujące zwiększeniem aktywności enzymatycznej i *1, związanego z normalną funkcją enzymatyczną. Istotną obserwacją jest również wykazanie braku zależności między płcią i BMI a częstością występowania niepożądanych działań worykonazolu w badanej grupie pacjentów dorosłych.

Monitorowanie bezpieczeństwa stosowania profilaktyki posakonazolem u pacjentów pediatrycznych pozwoliło stwierdzić, iż z uwagi na brak istotnej zależności między polimorfizmem genu ABCB1 a skutecznością, częstością występowania i nasileniem niepożądanych działań niepożądanych tego leku, genetyczne monitorowanie profilaktyki posakonazolem nie znajduje klinicznego uzasadnienia w tej grupie pacjentów.

Nowatorskimi, o dużym charakterze aplikacyjnym obserwacjami Doktorantki były: wykazanie tendencji do wydłużania czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) w trakcie prowadzonej profilaktyki p-grzybiczej u pacjentów z wariantem 3435TT oraz wykazanie statystycznie istotnej zależności między wiekiem pacjentów pediatrycznych a zwiększaniem aktywności transaminaz, LDL i stężenia bilirubiny.

Wyniki przeprowadzonych eksperymentów pozwoliły na sformułowanie 4 wniosków potwierdzających celowość zrealizowanych badań oraz ich przydatność kliniczną w optymalizacji bezpieczeństwa stosowania profilaktyki p-grzybiczej u pacjentów po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych.

Potwierdzeniem umiejętności posługiwania się nowoczesnymi metodami badawczymi, interdyscyplinarnej wiedzy, a także krytycyzmu naukowego Doktorantki jest rozdział 5. Dyskusja, który, zredagowany w sposób wzorcowy na 3 stronach, zawiera zestawienie uzyskanych wyników z danymi z aktualnego piśmiennictwa naukowego, odsyłając jednocześnie czytelnika do opublikowanych badań własnych.

Praca napisana jest niezwykle starannie, wyróżnia się bardzo dużym ładem edytorskim i poprawnością językową, a zróżnicowane kolorystyczne ryciny i tabele oraz załączone kopie opublikowanych prac ułatwiają analizę prezentowanych wyników.

Praca doktorska Pani mgr farm. Beaty Magdaleny Sienkiewicz – Oleszkiewicz, którą oceniam bardzo wysoko, całkowicie spełnia wymogi stawiane tego typu dysertacjom naukowym, co upoważnia mnie do przedstawienia Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosku o umożliwienie Doktorantce przystąpienia do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Mając na względzie nowatorski charakter badań, wpisujących się w obszar optymalizacji profilaktyki worykonazolem i posakonazolem u pacjentów dorosłych i dzieci poddawanych allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych krwi opublikowanie uzyskanych wyników w renomowanych czasopismach naukowych (Σ IF = 6,707, Σ MNiSW = 89) oraz niezaprzeczone walory aplikacyjne pozwalam sobie przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego UM we Wrocławiu wnioski o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr farm. Beaty Magdaleny Sienkiewicz – Oleszkiewicz.

prof. dr hab.
Edmund Grzeskowiak