



Warszawski Uniwersytet Medyczny

Klinika Medycyny Transplantacyjnej, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych

02-006 WARSZAWA ul. Nowogrodzka 59, tel. (22) 502 16 31, fax (22) 502 21 26

Kierownik:

Prof. dr hab. med. Magdalena Durlik

e-mail: mdurlik@wum.edu.pl

Warszawa, 2021-08-02

Ocena rozprawy doktorskiej lek. med. Jacka Rubika zatytułowanej „Wpływ stężenia takrolimusu oznaczanego przed kolejną dawką na odległą czynność przeszczepu nerki u dzieci mierzoną szacowanym wskaźnikiem filtracji kłębuszkowej eGFR”.

Przeszczepienie nerki jest optymalną metodą leczenia nerkozastępczego, ponieważ w porównaniu z dializoterapią przedłuża życie i poprawia jego jakość. Ma to szczególne znaczenie dla dzieci, gdyż umożliwia im prawidłowy rozwój i funkcjonowanie w rodzinie i społeczeństwie. Wyniki odległego przeżycia pacjenta i przeszczepu w kilku ostatnich dekadach uległy znacznej poprawie, jednak przeżycie przeszczepu jest ograniczone w czasie. W różnym czasie dochodzi do przewlekłej dysfunkcji przeszczepu i konieczności leczenia nerkozastępczego- dializoterapii lub kolejnej transplantacji. U dzieci jest to szczególnie problem, bo transplantacja w młodym wieku oznacza przy rokowaniu długiego przeżycia pacjenta perspektywę kilku transplantacji w życiu. Zachowanie jak najdłużej czynności pierwszego przeszczepu jest wyzwaniem transplantologii, również w aspekcie niedoboru narządów do transplantacji. Na czynność przeszczepu nerkowego ma wpływ wiele czynników immunologicznych i nieimmunologicznych, cechy dawcy i biorecy.

Jednym z najważniejszych jest przewlekłe leczenie immunosupresyjne. Podstawowym lekiem w schematach immunosupresji jest inhibitor kalcyneuryny-takrolimus najczęściej kojarzony z glikokortykosteroidami i pochodnymi kwasu mykofenolowego. Inhibitory kalcyneuryny cechują się dużą zmiennością między- i wewnątrzsobniczą, wąskim oknem terapeutycznym. Ich dawkowanie wymaga monitorowania poziomu leku we krwi. W przypadku takrolimusu jego poziom C_0 wykazuje dobrą korelację z 24-godzinny polem pod

krzywą (AUC), dlatego stosowany jest w praktyce klinicznej. Wyniki przeszczepiania nerek z zastosowaniem takrolimusu są na tyle dobre, iż wydaje się, że na wiele lat nie zastąpi go inny lek, tym bardziej, że nie ma takiego w perspektywie najbliższych lat. Międzynarodowy Zespół Ekspertów COMMIT uznał, że poprawa odległych wyników przeszczepiania zależy od wczesnego wykrywania i oddziaływania na modyfikowalne czynniki ryzyka utraty przeszczepu. Jednym z nich uznano właściwą ekspozycję na takrolimus. Skoro nie mamy w naszym armamentarium nowych leków, lepiej musimy zarządzać dostępnymi. Empirycznie uznano, że poziom leku w zakresie 5-10 ng/ml jest terapeutyczny. Jest to jednak szeroki zakres i dotychczas, zwłaszcza w populacji pediatrycznej nie zbadano wpływu poziomu leku w tym przedziale na odległą czynność przeszczepu. Zarówno nadmierna immunosupresja powoduje powikłania, jak również niedostateczna związana jest z niekorzystnym wpływem na układ immunologiczny biorecy w postaci produkcji przeciwciał DSA i rozwoju przewlekłego odrzucania zależnego od przeciwciał, które obecnie uznawane jest za główną przyczynę późnej utraty przeszczepu. Stąd podjęty przez Doktoranta temat pracy jest bardzo aktualny i wychodzi naprzeciw zapotrzebowaniu lekarzy transplantologów na ocenę terapeutycznego monitorowania leku w prowadzeniu pacjenta po transplantacji nerki i optymalizacji wyników przeszczepiania. W praktyce klinicznej, w przewlekłej obserwacji ambulatoryjnej monitorowanie poziomu C_0 takrolimusu jest jedynym dostępnym narzędziem. Inne dokładniejsze metody uwzględniające farmakokinetykę i farmakogenetykę leku są niedostępne ze względu na ich koszty, czas wykonania, często brak standaryzacji metody. Również metody monitorowania immunologicznego, może bardziej zbliżające nas do oceny alloreaktywności biorecy i rzeczywistego zapotrzebowania na immunosupresję, są na razie w podani transplantacyjnej przyszłości.

Celem zasadniczym dysertacji lek. Jacka Rubika było zbadanie, czy stężenie takrolimusu C_0 ma niezależny od innych czynników wpływ na odległą czynność przeszczepu nerki u dzieci, mierzoną szacowanym wskaźnikiem filtracji kłębuszkowej (eGFR). Dodatkowo Doktorant postanowił ocenić, czy można zawęzić zakres stężeń takrolimusu w terapii podtrzymującej z korzyścią dla odległej czynności przeszczepu nerkowego, jeśli tak, to w jakiej grupie pacjentów. Ostatnim celem była ocena wpływu cech klinicznych pacjenta na poziom takrolimusu C_0 .

We obszernym wstępie Autor jasno i wyczerpująco przedstawia zagadnienia transplantacji nerek u dzieci; wyniki przeszczepiania, przyczyny utraty przeszczepu, metody monitorowania czynności nerki przeszczepionej, zwłaszcza wzory na szacowane przesączanie kłębuszkowe. Omówiono leki immunosupresyjne, mechanizmy ich działania, stosowane u

dzieci schematy leczenia immunosupresyjnego. Szczególnie dokładnie opisany został takrolimus, jego farmakokinetyka, farmakogenetyka, przyczyny zmienności wewnątrzosobniczej, monitorowanie leczenia takrolimusem.

Założenia pracy i cele przedstawiono jasno i kompetentnie.

Metodyka badań została przedstawiona poprawnie i przejrzysto. Autor objął retrospektywnym badaniem reprezentatywną grupę 94 biorców nerki (transplantacja w latach 2014-2018 w IPCZD), którym w terapii podtrzymującej zastosowano takrolimus. Pacjenci otrzymywali oryginalny takrolimus (Prograf®) dawkowany dwa razy na dobę lub takrolimus o przedłużonym uwalnianiu (Advagraf®) podawany raz na dobę. Autor zebrał dane demograficzne i kliniczne dawcy i biorcy, dane doboru immunologicznego dawca/biorca, stosowaną immunosupresję towarzyszącą, wszystkie oznaczenia C_0 takrolimusu w krwi pełnej u każdego pacjenta przez cały okres pięcioletniej obserwacji i podobnie wszystkie wyliczenia eGFR, po kilka tysięcy oznaczeń dla obu parametrów. Stężenie takrolimusu oznaczano we krwi pełnej testem immunochemicznym z użyciem mikrocząstek i znacznika chemiluminescencyjnego CMIA. Wszystkie oznaczenia wykonano tą samą metodą i w tym samym laboratorium, co jest bardzo ważne dla wiarygodności otrzymanych wyników. Zalecane stężenia takrolimusu w ciągu pierwszych 30 dni po KTx wynosiło 10-15 ng/ml a po upływie 30 dni 5-10 ng/ml. Dla wszystkich biorców eGFR wyliczano z uproszonego wzoru Schwartz.

Wyniki badań zostały starannie opracowane i szczegółowo ilustrowane tabelami i metodą graficzną. Poddano je także szczegółowej analizie statystycznej, zależność dynamiki zmian eGFR od stężenia takrolimusu w ciągu całego czasu obserwacji przedstawiono na specjalnie opracowanym i zwalidowanym modelu matematycznym.

Autor wykazał, że dynamika zmian czynność przeszczepu nerkowego oceniana eGFR zależy od jego wyjściowej wartości (pierwsze półrocze). U biorców z wyjściowo dobrą $>95 \text{ ml/min/1,73m}^2$ wartością obserwowano postępujący spadek wartości eGFR, a u pacjentów z $\text{eGFR} < 95 \text{ ml/min/1,73m}^2$ czynność przeszczepu pozostawała stabilna.

W dalszej analizie zmian stężenia takrolimusu we krwi wszystkich biorców w ciągu całego okresu obserwacji Doktorant wykazał, że stężenie to po upływie 30 dni od transplantacji utrzymywało się w zalecanym przedziale 5-10 ng/ml, aczkolwiek bliżej dolnej granicy normy (po upływie 1,5 roku na poziomie 6,5 ng/ml).

Najbardziej wartościowe wyniki dotyczyły wpływu stężenia takrolimusu na odległą czynność przeszczepu mierzoną eGFR. Doktorant przeprowadziła bardzo wnikliwą analizę statystyczną, ze względu na dużą liczbę oznaczeń poziomu leku i eGFR Autor posłużył się

średnimi wartościami oznaczeń w kolejnych półrocznych okresach, dokonał także podziału stężeń leku i eGFR na rozłączne przedziały, otrzymując do dalszej analizy 48 możliwych scenariuszy zmian stężeń takrolimusu i eGFR. Występowanie niskich stężeń takrolimusu związane było z niższym eGFR a wysokie stężenia korelowały z wyższym eGFR. Zależność ta występowała jako niezależny czynnik tylko dla wartości $eGFR > 95 \text{ ml/min/1,73m}^2$, czyli u 32% dzieci. Tempo obniżania się eGFR w zależności od stężenia takrolimusu zależało od wyjściowej wartości eGFR. U osób z wyjściowo wysokim $eGFR > 95 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ubytek eGFR zależał od stężenia takrolimusu i ulegał zahamowaniu jeśli stężenie leku przekraczało 6 ng/ml w każdym okresie po KTx, a w przypadku stężenia 8 ng/ml, efekt zahamowania był jeszcze silniejszy. Natomiast przy wyjściowym $eGFR < 95 \text{ ml/min/1,73m}^2$ poziom leku we krwi nie wpływał na tempo pogarszania się czynności nerki.

Kolejna ciekawą obserwacją jest stwierdzenie, że z cech klinicznych biorcy i dawcy jedynie dobór immunologiczny w zakresie HLA miał niezależny wpływ na korelację pomiędzy poziomem takrolimusu a eGFR, zahamowanie spadku eGFR przy utrzymywaniu stężenia leku $> 6 \text{ ng/ml}$ było większe jeśli nerka była lepiej dobrana.

Dodatkowo ciekawym działaniem było wykonanie symulacji komputerowej dla grupy 10 tys. wirtualnych biorców w celu zbadania trajektorii procesu w zależności od średniego stężenia leku w ciągu 5 lat obserwacji oraz początkowego średniego eGFR (pierwsze półrocze). Ochronna rola wyższych stężeń takrolimusu przed spadkiem eGFR była jedynie widoczna dla $eGFR > 95 \text{ ml/min/1,73 m}^2$. Symulacje komputerowe pozwalają prognozować potencjalne korzyści kliniczne.

Interpretacja otrzymanych wyników dowodzi dojrzałości Doktoranta jako badacza i jego szerokiej wiedzy, która pozwoliła sprostać podjętym zadaniom. Autor oparł się na dostępnych w codziennej praktyce klinicznej narzędziach służących do monitorowania czynności nerki i terapii takrolimusem, wykorzystał eGFR wyliczony wg wzoru Shwartz'a i stężenie C_0 takrolimusu, co pozwala na wykorzystanie wniosków pracy w praktyce klinicznej. Dawkowanie leku oparte o C_0 okazało się skuteczne i zapewniało w całej grupie poziom terapeutyczny takrolimusu. Należy podkreślić, że Ośrodek IPCZD reprezentuje transplantologię pediatryczną na najwyższym poziomie, ma świetnie zorganizowaną opiekę nad biorcami nerki, w ciągu 5 lat obserwacji nie stwierdzono w badanej grupie zgonu ani utraty przeszczepu.

Doktorant podjął próbę wyjaśnienia, dlaczego w przypadku wysokich wartości $eGFR > 95 \text{ ml/min/1,73m}^2$ w pierwszym półroczu wartość eGFR się obniżała a przy wartościach przeciętnych albo niskich nie obniżała, się a nawet wzrastała. Wysokie

wyjściowe wartości eGR tłumaczy się otrzymaniem nieproporcjonalnie dużego narządu, pacjenci otrzymywali nadmiar nefronów w porównaniu do ich potrzeb metabolicznych. Szybkie tempo obniżania się wysokiego eGFR związane jest z mechanizmami hemodynamicznymi, przystosowaniem się układu naczyniowego nerki do mniejszej objętości krwi krążącej. Stabilność eGFR, jeśli nie był on zbyt wysoki tłumaczy się kompensacyjnym wzrostem narządu. Wpływ wysokiego wyjściowego eGFR w miarę upływu czasu po KTx staje się mniejszy. Obserwacja Autora obejmuje pierwszych 5 lat po KTx, otwartym pozostaje pytanie, czy eGFR w kolejnych latach ma szansę być stabilnym?

Hipoteza badawcza, że zawężenie przedziału terapeutycznego poziomu C_0 takrolimusu może przynieść korzyść w wybranej grupie pacjentów okazała się słuszna. Stwierdzenie niezależnego wpływu stężenia takrolimusu na tempo obniżania się eGFR u dzieci z wyjściowo wysokim eGFR jest pierwszym tego typu doniesieniem w literaturze. Ta informacja ma bardzo istotną wartość kliniczną, gdyż wykazuje, że u chorych z wyjściowo bardzo dobrą czynnością przeszczepu, którzy traktowani są jako grupa niskiego ryzyka utraty przeszczepu, nie należy minimalizować immunosupresji i utrzymywać poziom takrolimusu > 6 ng/ml nawet o odległej obserwacji. Należy podkreślić, że otrzymane wyniki dotyczą pierwszych 5 lat po KTx, co oczywiście nie jest okresem zadowalającym dla przeżycia przeszczepu. Odpowiedź czy poziom takrolimusu utrzymywany >6 ng/ml przez 10-15 lat będzie korzystny i bezpieczny dla przeżycia pacjenta i przeszczepu, czy też, tak jak u osób dorosłych wzrośnie liczba utraconych przeszczepów z powodu zgonu pacjenta z czynnym przeszczepem, wymaga dalszych obserwacji.

Dyskusja jest napisana ciekawie i przejrzyście. Uwzględniając wyniki własnych badań Doktorant dojrzałe polemizuje z opiniami innych badaczy.

Rozprawę kończy wniosek podstawowy i 3 wnioski dodatkowe, które znajdują pełne uzasadnienie w otrzymanych wynikach przeprowadzonych badań. Doktorant wnioskuję, że stężenie takrolimusu jest niezależnym czynnikiem wpływającym na odległą czynność przeszczepu u dzieci z wyjściowo wysokimi wartościami tego wskaźnika.

Cytowane piśmiennictwo, głównie w języku angielskim, liczy 149 odpowiednio dobranych pozycji.

Praca została wykonana starannie, napisana zwięźle i jasno, poprawnym językiem.

W podsumowaniu stwierdzam, że praca lek. med. Jacka Rubika została prawidłowo zaplanowana i właściwie przeprowadzona pod względem metodycznym. Na szczególne

uznanie zasługują stworzone i zwalidowane modele matematyczne. Autor podją się bardzo aktualnego i ważnego tematu. Praca daje istotny wgląd w problemy terapii monitorowanej i jej optymalizacji u pediatrycznych biorców przeszczepu w celu przedłużenia przeżycia przeszczepu nerkowego. Praca ma duże implikacje kliniczne, poszerza dotychczasową wiedzę na temat wpływu stężenia takrolimusu na czynność przeszczepu nerkowego u dzieci i możliwości jego modyfikacji.

Lek. med. Jacek Rubik wykazuje należyte przygotowanie do pracy naukowej, a przedstawiona rozprawa spełnia warunki określone w art.13 Ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz.595 z późn.zm.) w związku z art.179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz.1669 z późn. zm.) toteż zwracam się do Rady Naukowej Instytutu „Pomnik- Centrum Zdrowia Dziecka” o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów postępowania.

Warszawa, dnia 1.08. 2021 r.



Prof. Magdalena Durlik