

Gdańsk 03.09.2021

OCENA PRACY 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.

Transplantacja nerki jest optymalną metodą leczenia nerkozastępczego. Prawidłowo funkcjonująca nerka zastępuje wszystkie funkcje niewydolnych nerek własnych i w porównaniu z leczeniem dializami zapewnia pacjentowi dłuższe przeżycie i lepszą jakość życia. Szczególne znaczenie ma to w przypadku dzieci, gdyż umożliwia ich prawidłowy rozwój. Na przestrzeni lat doszło do istotnej poprawy wyników leczenia transplantacją nerki. Kształt krzywych przeżycia wskazuje na to, że poprawa dotyczy głównie wczesnych lat po transplantacji oraz na to, że w ostatnich latach szybkość zmian w kierunku dalszej poprawy długoterminowego rokowania jest wolniejsza. Dzieje się tak mimo prowadzenia intensywnych badań nad optymalizacją postępowania z pacjentem po transplantacji nerki. Do częstych przyczyn utraty nerki w późniejszym okresie po transplantacji należy przewlekłe i ostre odrzucanie, głównie zależne od przeciwciał (AMR). Jedną z przyczyn odrzucania jest nieadekwatna immunosupresja, nierzadko w tej grupie wiekowej spowodowana niedostosowywaniem się do zaleceń co do przyjmowania leków.

Złotym standardem diagnostycznym umożliwiającym rozpoznania odrzucania jest biopsja nerki i monitorowanie immunologiczne za pomocą testów fazy stałej (Luminex), jednak w codziennej praktyce klinicysta opiera się na badaniu stężeniu kreatyniny i ocenie wskaźnika przesączania kłębuszkowego (eGFR). Stabilność tych parametrów zazwyczaj nie prowokuje dalszych decyzji terapeutycznych tj. chociażby wykonania biopsji nerki.

Aktualnie podstawowym lekiem immunosupresyjnym wchodzącym w skład protokołu immunosupresyjnego jest takrolimus (inhibitor kalcyneuryny, CNI), zastąpił on w dużej mierze pierwszy lek z tej grupy czyli cyklosporynę A. Wprowadzenie do transplantologii CNI, a zwłaszcza takrolimusu spowodowało znaczną poprawę przeżywalności nerek.

Takrolimus jest metabolizowany w wątrobie głównie z udziałem cytochromu P450-3A4, jest on również metabolizowany w ścianie jelita. Lek w dużym stopniu wiąże się z erytrocytami, aktywność wykazuje frakcja leku znajdująca się w osoczu i nie związana z białkami. Takrolimus charakteryzuje

się bardzo dużą wewnątrz- i międzyosobniczą zmiennością farmakokinetyki w zakresie wchłaniania, metabolizmu i eliminacji, co oznacza, że ekspozycja na lek może się bardzo różnić między pacjentami i u tego samego pacjenta niezależnie od zastosowanej dawki. Wykazano, że duża zmienność stężeń jest wskaźnikiem złego rokowania co do odległego przeżycia przeszczepu. Znaczenie ma więc możliwie częste monitorowanie stężenia leku. Ze względu na łatwość zastosowania w praktyce i dobrą korelację z polem pod krzywą (AUC) w większości ośrodków rutynowo oznacza się stężenie leku przed kolejną dawką (C₀). Zalecane stężenie w późniejszym okresie po przeszczepieniu nerki wynosi od 5 do 10 ng/ml. Wciąż istnieją wątpliwości, czy utrzymanie niższych lub wyższych stężeń (czyli zawężenie dotychczas zalecanego zakresu) może mieć korzystny wpływ na czynność przeszczepu.

W obliczu tych faktów uzasadnione jest podjęcie tego tematu w rozprawie doktorskiej, której zasadniczym celem było ustalenie czy stężenie takrolimusu C₀ ma niezależny od innych czynników wpływ na odległą czynność przeszczepu nerki u dzieci, mierzoną za pomocą eGFR. Założono, że nawet jeśli stężenie leku utrzymywać się będzie w docelowym przedziale 5-10 ng/ml, to może się okazać, że uzyskanie bardziej dokładnie zdefiniowanych stężeń (choć nadal pozostających w tym zakresie) zapewnia większe korzyści w odniesieniu do utrzymania wartości eGFR, a inne wartości stężenia (choć nadal w tym zakresie) mogą okazać się szkodliwe.

Do recenzji przekazano 136-stronicowy manuskrypt przygotowany na bazie wykonanych badań. Składa się on z 7 zasadniczych rozdziałów: wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Dołączony jest również wykaz skrótów, spis rycin (24) i tabel (24).

We Wstępie i jego podrozdziałach Autor wprowadza czytelnika w tematykę związaną z zagadnieniami dotyczącymi transplantacji nerek w populacji pediatrycznej, w tym również w ośrodku w którym pracuje. Instytut – Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka jest jedynym w Polsce ośrodkiem zajmującym się od 1984 roku transplantacją nerek u dzieci. Wykonano tam około 1100 transplantacji nerek co stawia go wśród najaktywniejszych ośrodków w Europie. W ocenie recenzenta zasługuje to na uwagę, ponieważ gwarantuje wiarygodność uzyskanych wyników opartą o wiedzę i doświadczenie zespołu. We wstępie Autor bardzo ciekawie przedstawia specyfikę zagadnień związanych z transplantacją u dzieci opierając się o szeroko cytowane piśmiennictwo, opisuje wyniki transplantacji, przyczyny utraty przeszczepu, metody monitorowania funkcji nerki, leczenie immunosupresyjne. Dużo uwagi poświęca leczeniu takrolimusem (farmakokinetyka, farmakogenetyka, przyczyny zmienności wewnątrzosobniczej, monitorowanie leczenia). Na uznanie zasługuje podrozdział wstępu pt. Uzasadnienie hipotezy badawczej w którym Autor merytorycznie uzasadnia cel podjęcia badań.

Autor postawił jeden podstawowy cel pracy (przytoczony powyżej) oraz trzy cele dodatkowe sformułowane w postaci pytań. Wynikają one z treści omówionych we wstępie pracy.

Rozdział Materiał i metody składa się z 10 podrozdziałów i zawiera charakterystykę badanej grupy chorych. Grupę badaną (N=94) stanowiły dzieci, po transplantacji nerki w okresie od 01.01.2014 do 01.07.2018 roku, które otrzymywały takrolimus, co było jedynym kryterium włączenia pacjenta do analizy. Zakres zbieranych danych o biorcach i dawcach był bardzo szeroki co obrazują tabele źródłowe 1 i 2.

Parametrem oceny czynności przeszczepu był eGFR wyliczany ze wzoru Schwartza na podstawie wielokrotnych oznaczeń stężenia kreatyniny. Parametrem oceniającym leczenie takrolimusem były wszystkie oznaczenia stężenia C0 takrolimusu. Autor analizował wpływ parametrów dotyczących wyjściowej charakterystyki biorcy, dawcy, procedury transplantacji, towarzyszącej immunosupresji oraz ważnych zdarzeń klinicznych powodujących zakończenie obserwacji na zależność między eGFR i stężeniem takrolimusu C0. Stężenie takrolimusu oznaczano we krwi pełnej testem immunochemicznym CMIA. Analizę zależności zmian eGFR w całym okresie obserwacji po transplantacji od stężenia takrolimusu C0 Autor przeprowadził na specjalnym modelu statystycznym, który był uprzednio walidowany.

Wyniki zaprezentowane są w dziesięciu podrozdziałach pełnych tabel i wykresów. Analiza jest drobiazgowa ale jej odbiór umożliwia umieszczony pod tabelami i rycinami opis uzyskanych wyników.

Uwaga recenzenta: Autor podaje, że zamknięcie bazy danych miało miejsce 01.07.2018, a okres w którym przeszczepiono chorych sięgał 01.07.2018. Proszę o odniesienie się do czasu obserwacji chorych (mediany/średniej).

W okresie badanym stężenia takrolimusu utrzymywane były w zakresie 5-10 ng/ml. Do ciekawych obserwacji Doktoranta należy wykazanie, że dynamika funkcji nerki zależy od wyjściowej wartości eGFR. U pacjentów z bardzo dobrą czynnością przeszczepu (eGFR >95 ml/min) stwierdzono postępujący spadek wartości eGFR, podczas gdy u pacjentów z gorszą wyjściową czynnością przeszczepu (eGFR < 95 ml/min) czynność nerki w okresie obserwacji nie pogarszała się. Ważną obserwacją jest również wykazanie, że właśnie u pacjentów z wyjściową wysoką wartością eGFR tempo pogarszania czynności przeszczepu zależało od stężenia C0 takrolimusu. Jeśli przekraczało ono 6 ng/ml to szybkość obniżania się eGFR ulegała zahamowaniu. Ponadto podwyższenie stężenia leku u tych chorych do 8 ng/ml powodowało dodatkowy efekt zmniejszenia spadku wartości eGFR w czasie.

Zjawiska tego nie obserwowano gdy przy wartości $eGFR < 95$ ml/min. Autor również wykazał, że na zależność między stężeniem leku i wartością $eGFR$ w czasie, miał wpływ jedynie zakres doboru HLA, bowiem zahamowanie spadku wielkości $eGFR$ (zależne od stężenia leku > 6 ng/ml), było tym większe, im lepiej dobrana była nerka.

Uwaga recenzenta: Przy analizie parametrów Autor wielokrotnie używa niespotykanego określenia „niedobór HLA” raczej chodzi o dobór immunologiczny w zakresie antygenów HLA i liczbę niezgodnych antygenów (mismatch).

W podrozdziale VII pt. Konsekwencje kliniczne uzyskanych zależności Autor prezentuje symulacje komputerową średnich wartości $eGFR$ w półroczach po przeszczepieniu dla grupy 10 tysięcy hipotetycznych („wirtualnych”) biorców w oparciu o trzy wartości: średnie stężenie $eGFR$ w półroczu i średnie stężenie C0 TAC w półroczu. Proces ten generowano dla 10 półroczy po przeszczepieniu (5 lat), bo na tyle wg Autora pozwalały szeregi czasowe obserwacji 94 analizowanych pacjentów. Autor następnie przedstawił dwa scenariusze dla pacjenta z $eGFR$ 110 i dla pacjenta z $eGRF$ 80ml/min w pierwszym półroczu.

Analizowane wyniki rzeczywiste oraz wyniki wspomnianej symulacji zostały podsumowane przez Autora w 10 punktach. Takie podsumowanie przy liczbie analizowanych parametrów jest bardzo przydatne, umożliwia bowiem wyciąganie precyzyjnych wniosków.

Kolejny rozdział to Dyskusja, liczy on 22 strony. Omawiając uzyskane wyniki Autor wykazał się umiejętnością analizy uzyskanych wyników w odniesieniu do danych publikowanych przez innych autorów. Dyskusja jest napisana ciekawie i ze znajomością tematu. Doktorant cytuje w niej wiele pozycji z piśmiennictwa.

Doktorant na podstawie uzyskanych wyników i ich analizy wyciągnął odpowiadające uzyskanym wynikom wnioski. Wnioskiem zasadniczym jest stwierdzenie, że stężenie C0 takrolimusu wykazuje niezależny od innych czynników wpływ na odległą czynność przeszczepionej nerki, ocenianą wartością $eGFR$ u chorych z wysokimi wartościami tego wskaźnika.

W ocenie recenzenta: Rozprawa doktorska ma duże znaczenie kliniczne. Autor wykorzystując powszechnie wykonywane badania jakim jest stężenie leku i stężenie kreatyniny wraz ze skrupulatnym monitorowaniem stężenia takrolimusu dał wskazówki kliniczne istotne dla przeżywalności przeszczepu. Postawiona przez Doktoranta hipoteza, że zawężenie przedziału terapeutycznego poziomu C0 takrolimusu może przynieść korzyść w wybranej grupie pacjentów okazała się słuszna. Nie było takich wcześniejszych doniesień w piśmiennictwie zarówno pediatrycznym jaki i u pacjentów dorosłych.

Uzyskane dane wskazują na korzyść z utrzymywania stężeń takrolimusu > 6 ng/ml nawet w odległej obserwacji u chorych z bardzo dobrą funkcją nerek. Założenie badania o kwalifikacji do niego dzieci przeszczepionych w określonym przedziale czasowym sprawia, że obserwacja tylko u niektórych z nich wynosi 5 lat. Taka koncepcja badania ma swoje zalety ale i wady: z jednej strony ten sposób oceny przypomina zasadę analizy *intent-to-treat*, ale z drugiej czy można wyniki interpretować jako dotyczące 5 lat obserwacji? Przeżycie nerki obecnie oceniane jest w dłuższej perspektywie. Czy można do niej odnieść wyniki Autora może budzić pewne wątpliwości. Rodzi się pytanie czy nerki, które przeżyją ponad 10 lat będą tymi, które leczono uzyskując wyższe stężenia takrolimusu i jaki będzie wpływ takiego postępowania na biorcę. Odpowiedź czy poziom takrolimusu utrzymywany > 6 ng/ml przez 10-15 lat będzie korzystny i bezpieczny wymaga zatem dalszych badań.

Kolejny rozdział to Piśmiennictwo: składa się ze 149 aktualnych, dobrze dobranych i właściwie cytowanych pozycji.

Streszczenia w języku polskim i angielskim precyzyjnie opisują dysertację.

Podsumowując uważam, że przedstawiona do recenzji dysertacja jest dobrze zaplanowana, skrupulatnie przeprowadzona i starannie napisana. Dysertacja prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydata w dyscyplinie nauki medyczne oraz dowodzi umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Uzyskane przez Autora wyniki poszerzają dotychczasową wiedzę na temat wpływu stężenia takrolimusu na czynność przeszczepu nerkowego u dzieci. W mojej opinii przedstawiona rozprawa lek. med. Jacka Rubika 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 (tj.: Dz.U. z 2017 r., poz. 1789) w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. - przepisy wprowadzające Ustawę Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1669) toteż zwracam się do Rady Naukowej Instytutu „Pomnik- Centrum Zdrowia Dziecka” o dopuszczenie lek. med. Jacka Rubika do dalszych etapów postępowania.



Prof. dr hab. Alicja Dębska-Ślizień

Kierownik Katedry i Kliniki Nefrologii Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Gdański Uniwersytet Medyczny