

Akceptacja
[Podpis]

OCENA

rozprawy doktorskiej lek. Martyny Maciejewskiej pt.

„Ocena bezpieczeństwa i skuteczności ambulatoryjnej mobilizacji krwiotwórczych komórek macierzystych małymi dawkami arabinozydu cytozyny (AraC) i G-CSF u chorych na szpiczaka plazmocytoowego” z Katedry i Kliniki Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Celem pracy była ocena bezpieczeństwa i skuteczności ambulatoryjnej mobilizacji krwiotwórczych komórek macierzystych (kkm) niskimi dawkami arabinozydu cytozyny (AraC) (łącznie dawka 0,8 g/m²) i G-CSF u chorych na szpiczaka plazmocytoowego. Pomimo, że dotychczas stosowane dawki AraC charakteryzowały się wysokim odsetkiem udanych mobilizacji, ale obciążone były działaniami niepożądanymi uniemożliwiającymi przeprowadzenie takiego leczenia w trybie ambulatoryjnym. W dotychczasowym piśmiennictwie brak jest danych oceniających skuteczność i bezpieczeństwo niskich dawek AraC w tej procedurze.

We Wstępie Doktorantka omawia epidemiologię i etiopatogenezę szpiczaka plazmocytoowego, kliniczną klasyfikację nowotworów z komórki plazmatycznej wg WHO, kryteria rozpoznania uszkodzeń narządowych w przebiegu szpiczaka plazmocytoowego oraz kryteria rozpoznania gammapatii monoklonalnej o nieokreślonym znaczeniu i szpiczaka bezobjawowego. W kolejnym podrozdziale omawia ogólne zasady leczenia tych chorych oraz rolę auto-SCT w leczeniu szpiczaka plazmocytoowego. Omawia również podstawy teoretyczne i strategię mobilizacji kkm. Omawia też czynniki ryzyka niepowodzenia, mobilizację kkm samym G-CSF, chemomobilizację, wykorzystanie pleryksaforu, mobilizację z wykorzystaniem AraC.

Material i metody

Przeprowadzono jednośrodkową, retrospektywną analizę wyników pacjentów zakwalifikowanych do ambulatoryjnej mobilizacji kkm w Klinice Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych WUM w okresie pomiędzy czerwcem 2016 a styczniem 2020r. Zidentyfikowano 113 chorych na szpiczaka plazmocytoowego, którzy przebyli ambulatoryjną mobilizację kkm małymi dawkami AraC i G-CSF. Z powyższej grupy, wyodrębniono 2 podgrupy. Pierwszą z nich stanowiły osoby nowozdiagnozowane, leczone pierwszą linią leczenia, które uzyskały co najmniej częściową odpowiedź na zastosowane leczenie indukujące (90 chorych – grupa 1). W drugiej grupie znalazły się osoby leczone wieloma liniami chemioterapii i/lub radioterapii lub osoby, które nie uzyskały co najmniej częściowej remisji (23 chorych – grupa 2).

Kryteria kwalifikacji do mobilizacji: Pacjenci kierowani do ambulatoryjnej mobilizacji i HDMel/autoSCT podlegali jednolitemu, ogólnie przyjętemu standardowi kwalifikacji. Każdy pacjent po poinformowaniu o istocie ambulatoryjnej mobilizacji, a także pobrania i przeszczepienia komórek macierzystych, podpisał świadomą zgodę na

zaproponowane postępowanie. Każdy z pacjentów wyraził pisemną zgodę na wykorzystanie danych medycznych do celów naukowych w ramach WUM.

Mobilizacja krwiotwórczych komórek macierzystych. Każdy pacjent otrzymał ambulatoryjnie AraCw dawce $0,4\text{g}/\text{m}^2$ raz dziennie, przez dwa kolejne dni (dzień 1, 2). Łączna dawka wynosiła $0,8\text{g}/\text{m}^2$ dla wszystkich pacjentów. Następnie, pacjenci aplikowali sobie G-CSF w iniekcjach podskórnych, począwszy od dnia 5 do 14 mobilizacji. Dawka G-CSF (Zarzio, Sandoz, Austria) wynosiła $5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ raz dziennie w dniach 5 – 9 mobilizacji oraz $10\ \mu\text{g}/\text{kg}$ w dwóch dawkach podzielonych w dniach 10 – 13 mobilizacji. Kilko pacjentów otrzymało mniejsze dawki G-CSF: 36 $5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ raz dziennie w dniach 5 – 14 ($n=9$) oraz 12 pacjentów $5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ raz dziennie w dniach 5 – 11 i $10\ \mu\text{g}/\text{kg}$ w dwóch dawkach podzielonych w dniach 12, 13. Ostatnia dawka $5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ przyjmowana była rano w dniu aferezy, przed jej rozpoczęciem (około 2h). Podawanie G-CSF było kontynuowane, jeżeli konieczne były kolejne sesje aferez.

Kolekcja krwiotwórczych komórek macierzystych. U wszystkich pacjentów bez czynników ryzyka niepowodzenia mobilizacji, aferezy planowane były na 14ty dzień mobilizacji, niezależnie od odsetka komórek CD34+ w krwi obwodowej. U pozostałych chorych, decyzję o rozpoczęciu kolekcji podejmowano na podstawie monitorowania odsetka krążących kkm. U pacjentów przeprowadzono jedną, dwie, lub 3 sesje aferez w zależności od potrzeb. U pacjentów obciążonych czynnikami ryzyka, którzy nie osiągnęli odsetka krążących komórek CD34+ $\geq 10/\mu\text{l}$ odstępowano od zabiegu leukaferazy. Docelowa liczba komórek CD34+ w produkcie leukaferazy ustalona została jako minimalnie 2×10^6 komórek CD34+ /kg masy ciała biorcy na jedno przeszczepienie, optymalnie 12×10^6 komórek CD34+/kg masy ciała biorcyprzechowywane jako dwa worki po 4×10^6 komórek CD34+/kg masy ciała biorcy do celów przeszczepowych oraz jeden worek jako zabezpieczenie. Maksymalna liczba aferez została ustalona jako 4 zabiegi.

Autologiczne przeszczepienie kkm. Autologiczne przeszczepienia kkm wykonywano przy pomocy graftów poddawanych krioprezerwacji jak i graftów przechowywanych krótkoczasowo (do 72h) w temperaturze 4°C (niekrioprezerwowanych). Preferowano podejście z wykorzystaniem graftów niekrioprezerwowanych, ze względu na zmniejszone ryzyko powikłań.

Jako standard, chorzy w trakcie procedury HDMel/autoSCT otrzymywali około 4×10^6 komórek CD34+/kg masy ciała biorcy, nie poddanych krioprezerwacji. Nadmiarowy materiał zamrażano w ciągu 24h od zabiegu leukaferazy w celu wykorzystania do kolejnego przeszczepienia. Jeżeli HDMel/autoSCT odraczano na termin inny niż bezpośrednio po zbiórce komórek, materiał również był zamrażany i przechowywany do czasu transplantacji.

Analiza statystyczna

Do opracowania statystycznego zebranych danych stosowano program STATISTICA ver.13.3. Używano następujących testów statystycznych: test t-studenta dla prób niezależnych, ANOVA, korelacja Pearsona. Istotność statystyczna została zdefiniowana jako $p \leq 0.05$.

Wyniki

Autorka dokładnie i wyczerpująco omawia wyniki badań, które również ilustruje w tabelach i rycinach. Proponuję dokładniejszy opis rycin (liczba badanych w danej grupie oraz wartość p), co ułatwiłoby ocenę wyników badań.

Charakterystyka kliniczna badanej populacji. Obydwie grupy chorych analizowane były osobno. Ilość cykli chemioterapii przed mobilizacją, istotnie ujemnie korelowała z liczbą uzyskanych komórek CD34+ dla całej badanej populacji ($r=-0,3148$, $CI=0,95$). Obserwowano również silną korelację pomiędzy odsetkiem obwodowych komórek CD34+/ μ l w dniu aferezy, a sumą zebranych komórek CD34+/kg masy ciała biorcy ($r=0,7555$, $CI=0,95$). Grupa chorych nowozdiagnozowanych w porównaniu z osobami z czynnikami ryzyka niepowodzenia mobilizacji, znacząco różniły się pod względem wyników mobilizacji. Liczba WBC przed pierwszą aferezą, odsetek CD34+ we krwi obwodowej w dniu aferezy, jak i suma zebranych komórek CD34+/kg masy ciała biorcy różniły się znacząco (p odpowiednio: 0,0001, <0,0001, 0,043).

Charakterystyka kliniczna chorych w pierwszej linii leczenia. Średni wiek chorych wynosił $58,78 \pm 7,63$ lat.. Mediana liczby cykli chemioterapii w tej grupie wynosiła 5 (3 – 13). CR uzyskało 23% chorych, 44% VGPR, 33% PR. W drugiej grupie średni wiek wynosił 62 ± 39 lat; mediana ilości cykli chemioterapii wynosiła 8 (3-39). CR uzyskało 9% chorych, VGPR 26%, PR 43%, SD 13%, PD 4%.

Ocena skuteczności mobilizacji w grupie chorych w pierwszej linii leczenia. Sto procent pacjentów mogło rozpocząć aferezy w 14 dobie mobilizacji. Zabiegi były w tej grupie chorych rozpoczynane bez względu na liczbę krążących komórek CD34+. Średni odsetek obwodowych komórek CD34+ przed rozpoczęciem aferezy wynosił 153 komórki/ μ L. U 3% pacjentów stwierdzono liczbę komórek CD34+ < 10 μ L. U 97% spośród pacjentów przeprowadzono zabieg aferezy z obwodowego dostępu żylnego. Jedynie u dwójga pacjentów konieczna była implantacja wkłucia centralnego, aby uzyskać pożądane parametry separacji. Średnia liczba aferez w tej grupie wynosiła 1,45. 85,5% spośród pacjentów ($n=77$) zebrali $\geq 6 \times 10^6$ komórek CD34+/kg masy ciała. Minimalną liczbę komórek do jednego przeszczepienia, zdefiniowaną jako $\geq 2 \times 10^6$ komórek CD34+, uzyskało 100% pacjentów w trakcie ≤ 2 zabiegów aferez. Pacjenci, którzy zebrali $\geq 6 \times 10^6$ komórek CD34+/kg masy ciała, potrzebowali średnio 1,37 zabiegów aferez i zebrali średnio 12×10^6 komórek CD34+/kg masy ciała.. W krwi krążącej w tej podgrupie stwierdzano średnio 168 komórek CD34+/ μ L. Pacjenci, u których zebrano $\geq 6 \times 10^6$ komórek CD34+/kg masy ciała biorcy, potrzebowali średnio 1,37 zabiegów aferez i zebrali średnio 12×10^6 komórek CD34+. W krwi krążącej w tej podgrupie stwierdzano średnio 168 komórek CD34+/ μ L. Natomiast w grupie chorych, u których zebrano poniżej 6×10^6 CD34+/kg masy ciała stwierdzono 41 komórek CD34/ μ l w krwi obwodowej.

Ocena skuteczności mobilizacji w podgrupie chorych leczonych wieloma liniami chemioterapii i/lub radioterapią. U 18 chorych rozpoczęto aferezy w 14 dobie mobilizacji, podobnie jak w grupie chorych leczonych pierwszą linią leczenia. Dwoch chorych wymagało przedłużenia podawania G-CSF odpowiednio do 15 i 20 dni. U 3 osób nie wykonano leukaferoz, ponieważ nie doszło do wyrzutu wystarczającej liczby komórek CD34+ do krwi obwodowej i rozpoznano niepowodzenie mobilizacji. U tych chorych obserwowano 2×10^6 kom. CD34+/kg masy ciała biorcy. U 11 osób zebrano

>6x10⁶kom. CD34+/kg masy biorcy 4 osoby nie uzyskały ilości komórek wystarczającej do przeprowadzenia aHSCT, co łącznie z osobami, u których nie zostały rozpoczęte kolekcje stanowi 30% (n=7 osób).

Protokół cMNC zastosowano u n=7 osób, uzyskując średnią ilość 5,52x10⁶kom. CD34+/kgmasy ciała biorcy protokół MNC u12 osób, uzyskując 9,262x10⁶kom. CD34+/kg masy biorcy p<0,05.

Ocena funkcji graftu po 3, 6 i 12 miesiącach po leczeniu

Dane dotyczące funkcjonowania graftu po 3 miesiącach od wysokodawkowanej terapii były dostępne dla 43 pacjentów. Liczba neutrofilii w krwi obwodowej u wszystkich raportowanych pacjentów wynosiła powyżej 0,5x10³/μL. Liczba płytek krwi ≤50 G/L obserwowana była zaledwie u 4,6% pacjentów, u żadnego z nich nie obserwowano spadku płytek krwi poniżej 20 G/L.

Dane dotyczące funkcjonowania szpiku po roku od przeszczepienia dostępne były dla 37 pacjentów. Liczba płytek krwi poniżej 50G/L i poniżej 20 G/L była obserwowana odpowiednio u 10,8% i 5,4% spośród pacjentów.

Ocena skuteczności mobilizacji w zależności od dawkowania G-CSF w grupie chorych bez czynników ryzyka niepowodzenia mobilizacji. Dwudziestu pacjentów w podgrupie bez czynników ryzyka niepowodzenia mobilizacji otrzymało niższe dawki G-CSF: 5 μg/kg przez cały okres przyjmowania G-CSF (dni 5-14) lub 5 μg/kg w dniach 5-11 i 10 μg/kg w dniach 12-13. Pozostali pacjenci (n=70) otrzymali dawkę 5 μg/kg w dniach 5-9 oraz 10 μg/kg w dniach 10 – 13. Średnia liczba zebranych komórek CD34+ w grupie z wyższą i niższą dawką G-CSF wynosiła odpowiednio: 10,85x10⁶ (SD=4,85x10⁶) i 12,60x10⁶ (SD=4,68x10⁶), różnica nie była istotna statystycznie p>0,05.

Ocena bezpieczeństwa ambulatoryjnej mobilizacji małymi dawkami AraC. Dane dotyczące działań niepożądanych w trakcie mobilizacji zostały zebrane z użyciem terminologii CTCAE 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events version 5.0). Działania niepożądane raportowane były przez 47,8% (n=54) spośród wszystkich pacjentów. Tyle samo pacjentów nie zgłaszało dolegliwości dotyczących działań niepożądanych w trakcie mobilizacji. Wśród chorych po leczeniu pierwszej linii, objawy niepożądane zgłaszało 47% pacjentów, a w grupie leczonych wieloma liniami 56% pacjentów, różnica ta nie była istotna statystycznie, p>0,05. Przede wszystkim zgłaszano łagodne objawy związane ze stosowaniem czynnika wzrostu granulocytów, u 2 pacjentów obserwowano spadek liczby płytek krwi < 100G/L, u jednego z pacjentów wystąpiła małopłytkowość I st. Wg CTCAE. Żaden spośród pacjentów w tej podgrupie nie wymagał hospitalizacji, leczenia antybiotykami, transfuzji produktów krwiopochodnych. W podgrupie chorych leczonych wieloma liniami chemioterapii również dominował ból kości związany z przyjmowaniem G-CSF, u dwóch pacjentów wystąpiła małopłytkowość, w tym u jednego z nich 4 stopnia wg. CTCAE ver.5.0

Skuteczność i bezpieczeństwo mobilizacji wśród chorych dializowanych. Wśród analizowanych danych, zidentyfikowano 12 chorych (10,6%) przewlekłe hemodializo-

wanych. 11 spośród nich stanowili chorzy w pierwszej linii leczenia, jedna osoba podlegała kolejnej linii leczenia, po przebytych HDMel/autoSCT. Wszyscy chorzy w tej grupie podlegali tej samej procedurze mobilizacji ambulatoryjnej, z dostosowaniem dni podania chemioterapii do planowych dni hemodializ. Średnia liczba zebranych komórek CD34+ pacjentów dializowanych wyniosła $8,74 \times 10^6/\text{kg m.c.}$ Dla 10 spośród pacjentów dostępne były dane dotyczące działań niepożądanych w trakcie mobilizacji. Zgłosiło je 40% spośród pacjentów, były to wyłącznie umiarkowane bóle kostne i osłabienie.

Dyskusja jest wyczerpująca. Doktorantka ustosunkowuje się do uzyskanych wyników badań w stosunku do uzyskanych przez innych badaczy.

W podsumowaniu muszę podkreślić trafność podjętej tematyki badawczej, której wyniki mają bardzo duże znaczenie w praktyce klinicznej. Są pierwszymi, które wykazały możliwość przeprowadzenia mobilizacji kkm ambulatoryjnie, szczególnie u chorych w pierwszej linii leczenia, a także mogą stanowić cenną opcję u chorych z czynnikami ryzyka niepowodzenia mobilizacji. Obniża to koszty leczenia na każdym etapie procedury.

Praca jest napisana poprawnie pod względem językowym, stylistycznym i interpunkcyjnym (drobne niedociągnięcia zaznaczyłam w tekście). Dobór literatury właściwy. Autorka wykazuje umiejętność wykorzystania dostępnych źródeł piśmiennictwa, poprawnie sformułowała zadania badawcze, użyła trafnych metod i narzędzi badawczych. Układ pracy jest poprawny z prawidłową strukturą podziału treści.


Wnioski odpowiadają wynikom badań.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych 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 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn. zm.)

Mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wysoce pozytywną recenzję rozprawy doktorskiej lek. Martyny Maciejewskiej wniosek o dopuszczenie lek. Martyny Maciejewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, 24.07.2023 r.

Prof. dr hab. Irena Frydecka


prof. dr hab. Irena Frydecka
specj. chorób wewnętrznych
i hematologii
51-602 Wrocław, ul. Kochanowskiego 3
tel. 661317632 8621490