



ul. Św. Marii Magdaleny 14  
61-861 Poznań  
Prof. dr hab. Edmund Grześkowiak

tel. 061 852 90 57  
fax 061 852 90 57 w. 55  
e-mail: grzesko@ump.edu.pl

Poznań, 03. 04. 2018 r.

### Recenzja

pracy doktorskiej Pani mgr farm. Magdaleny Bulskiej pt.: „Ocena transportu przezłożyskowego erytromycyny stosowanej w terapii okołoporodowej GBS”, wykonanej pod kierunkiem Pani prof. dr hab. n. farm. Darii Orszulak – Michalak i Pana dr n. farm. Piotra Szcześniaka w Katedrze i Zakładzie Biofarmacji Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Mimo olbrzymiego postępu wiedzy w farmacji, medycynie czy szeroko pojmowanym obszarze nauk o zdrowiu powszechnie wiadomo, że wdrożenie czy kontynuacja farmakoterapii u kobiet w okresie ciąży może skutkować między innymi wzrostem ryzyka wystąpienia działań niepożądanych, związanych z stosowaniem substancji egzogennych, a w konsekwencji, z wystąpieniem stanów zagrożenia zdrowia i życia matki i dziecka. Wielokrotnie, wdrożenie czy kontynuacja farmakoterapii u kobiet w ciąży jest niezbędna z punktu widzenia zdrowia czy życia ciężarnej jak to ma miejsce chociażby w nadciśnieniu tętniczym, skutkującym zwiększonym ryzykiem wystąpienia powikłań okołoporodowych oraz zgonów zarówno matki jak i dziecka. U ciężarnych chorujących na nadciśnienie tętnicze, wśród różnorodnych jego form, za większość niekorzystnych następstw nadciśnienia tętniczego odpowiedzialny jest stan przedzucawkowy, skutkujący między innymi dysfunkcjami wielu narządów tj. układu sercowo-naczyniowego, ośrodkowego układu nerwowego, nerek, wątroby czy łożyska.

W innych przypadkach klinicznych wdrożenie czy kontynuacja farmakoterapii mogą nieistotnie wpływać na zdrowie i życie matki, posiadając korzystny wpływ na rozwijający się płód lub też wpływają korzystnie zarówno na organizm matki i dziecka, jak to ma miejsce chociażby w przypadku antybiotykoterapii.

Wiadomo także, że problemy z właściwą opieką medyczną nad ciężarnymi wynikają często z niedoskonałości zalecanych standardów postępowania

leczniczego, czy brakiem, z oczywistych powodów, wyników randomizowanych badań oceniających farmakokinetykę i farmakodynamikę leków stosowanych przez kobiety w okresie ciąży. Okres ten charakteryzuje się występowaniem wielu fizjologicznych zmian wpływających w sposób bezpośredni na farmakokinetykę stosowanych leków, obejmujących przede wszystkim etap dystrybucji (znaczący wzrost objętości płynów ustrojowych, spadek stężenia albumin czy wzrost rzutu serca), etap metabolizmu (indukcja izoenzymów CYP3A4, CYP2D6, UGT4A, UGT2B7 czy inhibicja CYP1A2 i CYP2C19) oraz etap wydalania (wzrost przesączania kłębuszkowego).

Jednymi z częściej ordynowanych leków w okresie ciąży i porodu są antybiotyki, co jest również bez wątpienia efektem pogarszającej się w skali ogólnoswiatowej sytuacji epidemiologicznej noworodków. Według danych epidemiologicznych do najczęściej diagnozowanych czynników etiologicznych odpowiedzialnych za wywoływanie ok. 50 % wczesnych zakażeń u noworodków jest paciorkowiec  $\beta$ -hemolizujący grupy B (*Group B Streptococcus*, GBS). Szacuje się, że ok. 10 – 30 % kobiet w okresie rozrodczym może być bezobjawowymi nosicielkami GBS, a grupą szczególnego ryzyka są kobiety w ciąży, gdyż w takich przypadkach istnieje prawie 70 % ryzyko transmisji *Streptococcus agalactiae* do organizmu noworodka, skutkujące bardzo poważnymi konsekwencjami klinicznymi w postaci posocznicy ogólnoustrojowej, zapalenia płuc czy zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Należy przy tym zauważyć, że zakażenie tym patogenem zarówno organizmu matki jak i noworodka może posiadać charakter zakażenia szpitalnego, co stanowić powinno szczególne wyzwanie dla farmaceuty szpitalnego/klinicznego tym bardziej, że infekcje GBS mogą dotyczyć również innych pacjentów chorych na nowotwory, cukrzycę, leczonych chirurgicznie ze szczególnym uwzględnieniem pacjentów powyżej 65 rż.

Zgodnie z rekomendacjami PTG, antybiotykami zalecanymi w okołoporodowej profilaktyce zakażeń *Streptococcus agalactiae* są penicylina, ampicylina, cefazolina, erytromycyna, klindamycyna i wankomycyna. Z uwagi jednak na rosnący problem oporności i często obniżonej skuteczności antybiotykoterapii okołoporodowej, szczególnego znaczenia nabierają prace badawcze zmierzające do optymalizacji, a tym samym prowadzące do wzrostu bezpieczeństwa i skuteczności terapeutycznej stosowania antybiotyków w tym szczególnym dla kobiecego organizmu okresie, stąd cel niniejszej pracy doktorskiej, którym była ocena transportu przezłożyskowego

erytromycyny stosowanej w terapii okołoporodowej GBS przy stosowaniu dawek zgodnych ze standardami PTG należy uznać za bardzo istotny ze względów poznawczych, klinicznych jak i humanitarnych.

Recenzowana, licząca 136 stron praca doktorska posiada tradycyjny, w pełni akceptowalny układ graficzny, zawierający XIV rozdziałów. Na szczególne podkreślenie zasługuje Rozdział XIV, zawierający odbitki trzech opublikowanych przez Doktorantkę prac ( $\Sigma$  IF=1,218), związanych tematycznie z zakresem badań realizowanych w ramach niniejszej pracy doktorskiej.

W liczącym 47 strony Rozdziale III. „Część teoretyczna”, cytując najnowsze piśmiennictwo, Doktorantka omawia ogólne zasady farmakoterapii u kobiet w ciąży, zwracając szczególną uwagę na klasyfikację leków pod względem bezpieczeństwa ich stosowania oraz zmiany w farmakokinetyce na poszczególnych etapach, decydujących o losach leku w ustroju. Omawiając indukcję izoenzymu CYP3A4 u kobiet w ciąży może warto było również zaznaczyć jego aktywność zależną od płci.

Bardzo istotne informacje zarówno z punktu widzenia tematyki realizowanych badań, ale także bezpieczeństwa i skuteczności farmakoterapii u kobiet w ciąży zawarte zostały w ilustrowanym barwnymi schematami podrozdziale „Przeptyw leków przez łożysko i ich dystrybucja u płodu”. Kolejną grupę tematyczną zestawionych w niniejszym rozdziale informacji stanowi zwięzłe omówienie rodzajów najczęściej diagnozowanych zakażeń bakteryjnych u kobiet w okresie ciąży oraz, wynikających z rekomendacji towarzystw naukowych, standardów postępowania terapeutycznego. Rozdział ten zawiera również omówienie zasad bezpieczeństwa stosowania w okresie ciąży wybranych grup antybiotyków ze szczególnym uwzględnieniem będącej przedmiotem badań w niniejszej pracy doktorskiej erytromycyny, a także innych antybiotyków makrolidowych. Zestawienie przez Doktorantkę w barwnych tabelach informacji dotyczących klasyfikacji ww. leków wg. kategorii FDA, stopnia migracji przez łożysko, wybranych parametrów farmakokinetycznych, działań niepożądanych, zaleceń/przeciwwskazań czy potencjalnych interakcji zwiększa „komunikatywność” tych danych. W podrozdziale 2.3 „Nosicielstwo paciorkowców grupy B (GBS) u kobiet w ciąży” w oparciu o dane literaturowe, dane epidemiologiczne oraz rekomendacje PTG Doktorantka omawia problemy związane z nosicielstwem paciorkowców grupy B (GBS) w populacji kobiet

w ciąży, charakteryzuje *Streptococcus agalactiae*, przybliży zasady okołoporodowej profilaktyki antybiotykowej oraz procedury postępowania z noworodkiem w przypadku stwierdzenia nosicielstwa GBS u matki, a także omawia powikłania i ryzyko ich wystąpienia u noworodków matek GBS dodatnich.

Ta część rozprawy doktorskiej, świadcząca o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym i orientacji Doktorantki w najnowszym piśmiennictwie naukowym, znakomicie wprowadza czytelnika w tematykę badawczą pracy, stanowiąc jednocześnie potwierdzenie naukowej zasadności podjętego kierunku badawczego.

W celu realizacji zasadniczego celu badań oznaczano stężenia erytromycyny w surowicy krwi kobiet ciężarnych oraz w surowicy krwi pobieranej z żyły i tętnicy pępowinowej. Poszukiwano również zależności pomiędzy stężeniem tego leku w surowicy krwi matki i stężeniem leku we krwi pępowinowej, a także określono wpływ wybranych zmiennych, opisujących zarówno matkę jak i dziecko na poziom stężenia erytromycyny we krwi płodu.

Do badań przeprowadzonych za zgodą lokalnej komisji etycznej włączono 77 pacjentek Kliniki Perinatologii i Ginekologii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, a kryterium włączenia do badania stanowiło zdiagnozowane zakażenie paciorkowcami z grupy B bądź, zgodnie z wytycznymi PTG, występowanie wskazań do wdrożenia okołoporodowej profilaktyki zakażeń GBS. Jasno sprecyzowane przez Doktorantkę kryteria włączenia pacjentek do badań oraz ich podstawowe dane kliniczne pozwalają wnioskować o prawidłowym doborze grup badawczych, choć jak zwykle w tego typu eksperymentach rzeczą dyskusyjną pozostaje liczebność grupy badawczej.

Zakwalifikowanym do niniejszych badań pacjentkom podawano dożylnie erytromycynę w postaci laktobionianu. Pierwsza grupa (62 pacjentki) otrzymywała lek w dawce 600 mg natomiast druga grupa (15 pacjentek) otrzymywała 900 mg erytromycyny rozpuszczonej w 500 ml PWE, przy czym różnice w przyjętym schemacie dawkowania determinowane były stanem klinicznym pacjentek i ich masą ciała. Erytromycynę w postaci pojedynczego wlewu dożylnego podawano ok. 4 godziny przed porodem. Materiał badawczy do zaplanowanych badań stanowiły pobrane, po ok. 1,5 godziny od zakończenia podawania leku, z żyły łokciowej matki

próbki krwi z oraz próbki pobrane z żyły i tętnicy pępowinowej. Stężenie erytromycyny w badanych oznaczano metodą ELISA. Wykorzystana w niniejszych oznaczeniach metoda analityczna oparta na teście kompetencyjnym została dobrana i opisana zgodnie z obowiązującym stanem wiedzy, również analiza statystyczna uzyskanych w pracy wyników, przeprowadzona z wykorzystaniem programu STATISTICA wersja 10, nie budzi merytorycznych zastrzeżeń.

Wyniki zawarte w Rozdziale IV. „Część doświadczalna” wraz z komentarzem i ich interpretacją zamieszczono w 12 tabelach i przedstawiono na 5 wykresach.

Oznaczone, średnie wartości stężeń erytromycyny w surowicach krwi matek zakwalifikowanych do poszczególnych grup badawczych wynosiły odpowiednio 2144,66 ng/ml i 3000,16 ng/ml natomiast stężenia te oznaczane w surowicy krwi żylniej i pępowinowej dla obu grup badawczych wynosiły w kolejności 51,19 ng/ml i 50,69 ng/ml oraz 54,09 ng/ml i 53, 10 ng/ml. Wyznaczona efektywność transportu przezłożyskowego wynosiła od 2 do 3%.

Obserwacją niezwykle istotną w aspekcie optymalizacji antybiotykoterapii u kobiet w ciąży jest wykazanie braku możliwości osiągnięcia stężeń terapeutycznych erytromycyny w surowicy krwi płodu mimo zwiększenia dawki leku podawanego matce. Oznaczone średnie stężenia erytromycyny w badanych matrycach biologicznych były niższe od literaturowych wartości MIC<sub>50</sub> i MIC<sub>90</sub>, co niewątpliwie ogranicza skuteczność tego leku w leczeniu wewnątrzmacicznych infekcji płodu wywoływanych przez *Streptococcus agalactiae*. Wyjaśnienie tej zależności wymaga dalszych badań, dotyczących np. ekspresji białek nośnikowych w łożysku czy mechanizmów transportu leków charakteryzujących się dużym ciężarem cząsteczkowym przez tę barierę.

Analizowano również wpływ wybranych parametrów osobniczych matki takich jak wiek, masa ciała, stopień zaawansowania ciąży, wyniki morfologii krwi obwodowej oraz dziecka (płeć, urodzeniowa masa ciała) na osiągnięte wartości stężeń erytromycyny w próbkach krwi pępowinowej wykazując dla obu badanych grup brak istotnych statystycznych zależności między oznaczonymi stężeniami leku a wiekiem i masą ciała matki, zaawansowaniem ciąży oraz płcią dziecka. Wyjątek

stanowiła zaobserwowana w grupie II odwrotnie proporcjonalna zależność między urodzeniową masą ciała dziecka i stężeniami erytromycyny, oznaczanymi w próbkach krwi pępowinowej.

Wyniki przeprowadzonych eksperymentów pozwoliły na sformułowanie 5 wniosków potwierdzających celowość zrealizowanych badań oraz potencjalną przydatność i bezpieczeństwo stosowania erytromycyny w leczeniu infekcji u kobiet w ciąży, wynikające z ograniczonej penetracji przezłożyskowej tego leku do płodu.

Potwierdzeniem wysokich kwalifikacji eksperymentatorskich, wiedzy, a także umiejętności naukowego wnioskowania Doktorantki jest Rozdział V. „Omówienie i dyskusja wyników”, który jest zredagowany wzorcowo, zawiera bowiem rzeczowe zestawienie i merytoryczną dyskusję uzyskanych wyników z danymi z aktualnego piśmiennictwa naukowego.

Praca napisana jest niezwykle starannie, wyróżnia się ładem edytorskim i dużą poprawnością językową, a zróżnicowane kolorystyczne ryciny i tabele ułatwiają analizę prezentowanych wyników. Niestety spis cytowanego piśmiennictwa zawiera błędnie używane skróty nazw czasopism (np. Ginek. Pol. – poz. 5, 13, 46, 50, 54, 56, 78, 124, 142, 143; Anest. Ratow. – poz. 22; Farm. Współcz. – poz. 16; Farm. Pol. – poz. 79, 103; J. Matern. Fetal Neonatal Med. – poz. 175, itd., a pozycje 13 i 78 odwołują się do tej samej pracy.

W podsumowaniu należy podkreślić, że większość uzyskanych w pracy wyników, o czym wspominałem wcześniej, została opublikowana, a także przedstawiona na konferencjach krajowych i zagranicznych, co niewątpliwie zwiększa ich naukowe znaczenie zarówno w aspekcie poznawczym jak i praktyczno-klinicznym.

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

prof. dr hab.  
Edmund Grzeskowiak