dr hab. Tomasz Grabowski
Gdański Park Naukowo Technologiczny
ZF Polpharma SA, Oddział Biotechnologia
Polpharma Biologics
Gdańsk

Gdańsk, 24.07.2018 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej magister farmacji Zofii Tylutki pt.: „Opracowanie farmakokinetycznego modelu serca służącego do wyznaczania surogatu frakcji aktywnej leku"

Recenzję opracowano w nawiązaniu do postanowień uchwały Rady Wydziału Farmaceutycznego, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie z dnia 25.06.2018 roku.

Jednym z kluczowych problemów nowoczesnej farmacji jest rejestracja nowych selektywnych, skutecznych, oraz bezpiecznych leków. Mimo ogromnego postępu jaki dokonał się w ostatnich latach, nadal przejście od kandydata na lek, do cząsteczki która pokonuje barierę II i III fazy badań klinicznych jest bardzo trudne. Nadal bardzo wiele substancji o optymalnym profilu farmakokinetycznym i farmakodynamicznym, nie dociera do fazy badań klinicznych ze względu na charakterystykę toksykologiczną. Dlatego weryfikacja potencjalnego ryzyka w bardzo wczesnych fazach prac nad nowym lekiem, pozwala zwiększyć szanse sukcesu, oraz przyspieszyć prace w fazie przedklinicznej. Jednym z elementów oceny ryzyka związanego ze stosowaniem potencjalnego leku, jest ocena jego kardiotoksyczności. Analiza kardiotoksyczności w zakresie rozszerzonego przedziału dawkowania lub w przypadkach przedawkowania leku to również problem, wymagający specyficznych narzędzi. Z punktu widzenia farmakometrii serce jest bardzo złożonym systemem. Jednym z kierunków farmakometrii które łączą elementy modelowania PK, PD ze zjawiskami oraz cechami fizjologii na poziomie komórki, tkanki czy organu są modele PBPK. Optymalizacja modelu PBPK serca, w odniesieniu do wyznaczania surogatu frakcji aktywnej leku, jest naturalnym kierunkiem, pozwalającym na stworzenie optymalnych rozwiązań metodycznych.

Biorąc pod uwagę powyższe, wybór tematyki pracy doktorskiej polegający na opracowaniu farmakokinetycznego modelu serca służącego do wyznaczania surogatu frakcji aktywnej leku jest uzasadniony. Podjęte zadania badawcze są aktualne i stanowią odpowiedź na oczekiwania środowiska naukowego oraz przemysłu. Mają również znaczny potencjał aplikacyjny.

Oceniana praca ma 184 strony maszynopisu w którym w kolejności, można wyróżnić stronę tytułową w języku angielskim, wykaz publikacji stanowiących podstawę niniejszej pracy, wykaz pozostałych publikacji, streszczenie pracy w języku angielskim, streszczenie pracy w języku polskim, sekcję podziękowania, spis treści, wstęp, cel i założenia pracy doktorskiej, materiały i metody, wyniki, dyskusję, wnioski oraz piśmiennictwo.

Autorka pracy zamieściła stronę tytułową jedynie w wersji anglojęzycznej. Ponieważ praca powstała na polskiej uczelni, powinna również zawierać stronę tytułową w języku polskim. Obecnie jedynym fragmentem, w którym odbiorca może zapoznać się z oryginalnym polskim tytułem pracy, jest krótkie streszczenie w języku polskim. Na stronie tytułowej umieszczono informacje o stopniach naukowych promotora, brakuje jednak równoważnej informacji dotyczącej magister farmacji Zofii Tylutki. Rozprawa napisana jest przejrzyście, poprawnym językiem. Na końcu pracy zamieszczono kopie publikacji stanowiących podstawę niniejszej dysertacji. Ponieważ dysertacja napisana została w języku angielskim w dalszym ciągu recenzji przywołano oryginalne tytuły oraz podtytuły poszczególnych sekcji.

Rozdział „*Streszczenie*" w krótki syntetyczny sposób opisuje kluczowe elementy rozprawy, podobnie jak „*Abstract*", który jest wiernym tłumaczeniem tekstu polskiego. Pewien rozdźwięk w treści obu fragmentów dotyczy opisu elementów walidacji zaproponowanego narzędzia. W streszczeniu Autorka stwierdziła że jednym z celów była „*weryfikacja modelu*" jednak w tłumaczeniu na język angielski brzmienie fragmentu ma inny charakter „*verify model performance*" Określenie „*performance of a model*" obejmuje najczęściej analizy w zakresie „*goodness-of-fit*", „*robustness*", „*reproducibility*", oraz „*predictive ability*" stanowiące elementy walidacji, co warto byłoby w tym miejscu doprecyzować.

Sekcja „*Contents*" pomija kilka elementów pracy jednak jest poprawnie skonstruowana i pozwala na odszukiwanie poszczególnych rozdziałów. Na stronie 11 dysertacji umieszczono wykaz skrótów stosowanych w tekście. Informacja o wykazie nie została jednak umieszczona w spisie treści. Na stronie 13 znajduje się opis fragmentu tekstu pod nazwą „*Chapter 1*" nazwa ta nie znajduje jednak odzwierciedlenia w spisie treści dysertacji. W spisie umieszczono również informację o numeracji stron na których odszukać można 4 publikacje stanowiące podstawę dysertacji. Numerację pracy zakończono na stronie 70, po czym wznowiono na ostatniej pustej stronie z nagłówkiem „*Appendix D. Publication IV*", pod numerem 184.

Zastosowany wykaz używanych skrótów ułatwia zrozumienie tekstu dysertacji. Wykaz ten nie jest jednak pełny. Nie zamieszczono w nim skrótów takich jak np. OATP2B1, OCTN1 czy CYP2J2 które występują w tekście.

W rozdziale „*Introduction*" Doktorantka w pierwszej kolejności przedstawiła podstawy historyczne rozwoju modeli PBPK. Przywołanie prac Dost'a czy Teorell'a jest w tym wypadku bardzo trafne. Dowodzi tego, że Doktorantka rozumie historyczne uwarunkowania które stanowiły podstawy nowoczesnej farmakometrii. Odwołanie do pozycji piśmiennictwa nr [1] wymaga korekty gdyż termin farmakokinetyka pojawia się po raz pierwszy w monografii: "*Der Blutspiegel. Kinetik der Konzentrations Ablaufe in der Kriesslaufflussigkeit*". We wstępie w przejrzysty sposób wyjaśniono strukturę modeli PBPK. Na uwagę zasługuje biegłość Autorki w posługiwaniu się wytycznymi Agencji takich jak EMA czy FDA. Niezwykle ważny wydaje się fragment wstępu, podkreślający splot celów środowisk naukowych, przemysłu farmaceutycznego oraz Agencji rejestrujących leki w skali globalnej, w odniesieniu do modelowania PBPK. Jednocześnie krótki fragment poświęcono kwestiom rozwiązań spersonalizowanych z zastosowaniem założeń modelowania PBPK. Elementy te pozwalają przybliżyć czytelnikowi tematykę pracy świadczą również, o dojrzałym, szerokim spojrzeniu Doktorantki na problem modelowania PK/PD. W dalszej części wstępu opisano status modelowania PBPK w odniesieniu do poszczególnych organów takich jak płuca, wątroba, serce czy przewód pokarmowy. W kolejnej sekcji Autorka odniosła się do podstaw anatomicznych oraz elektrofizjologii mięśnia sercowego. Ponadto odniosła się do rozmieszczenia i funkcji układów transportujących oraz enzymów metabolicznych obecnych w sercu. W kolejnych podrozdziałach wstępu Autorka opisała stan wiedzy w zakresie kardiotoksyczności leków oraz modeli serca w rozumieniu analizy PK/PD oraz PBPK. W tekście wstępu Autorka nie przywołała żadnych elementów graficznych takich jak ryciny czy tabele. Wstęp napisany został rzeczowo, w sposób zwięzły z użyciem fachowego języka. Poruszane zagadnienia zostały poparte odpowiednio dobranym piśmiennictwem i w sposób logiczny korespondują z podjętą tematyką badawczą. Świadczy to o dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki.

W rozdziale „*Aims of the thesis*" Doktorantka wyjaśniła dlaczego podjęła tematykę badawczą prezentowaną w pracy. Zdefiniowała także cele badawcze, na które chciałaby uzyskać odpowiedź w trakcie zaplanowanych badań. W rozdziale zdefiniowano cztery główne cele:

1. Celem badania opisanego w P I było zebranie i przedstawienie dostępnych danych na temat dystrybucji leków w ludzkiej tkance sercowej, wyrażonej jako współczynniki podziału pomiędzy tkankę sercową a osocze.
2. Celem badania opisanego w P II było stworzenie czterokompartmentowego modelu PBPK serca służącego jako podstawowa struktura pozwalająca przewidywać dystrybucję leku w tkance sercowej.
3. Celem badania opisanego w P III była rozbudowa uprzednio stworzonej struktury do mechanistycznego modelu PBPK. Model uwzględniał metabolizm zachodzący w sercu, transport bierny i aktywny w tkance sercowej oraz wyodrębniał przestrzenie zewnątrz- i wewnątrzkomórkową. Zaproponowany model został połączony z submodelem dla metabolitu. Model pozwalał oszacować stężenie w sercu zarówno leku jak i jego metabolitu z uwzględnieniem zmienności międzyosobniczej. Model został użyty do przewidywania zmian osoczowego i sercowego stężenia amitryptyliny (jako modelowego leku) i jej głównego metabolitu – nortryptyliny w czasie po podaniu amitryptyliny w postaci wlewu dożylnego.
4. Celem badania opisanego w P IV była budowa modelu PBPK dla amitryptyliny podawanej doustnie i weryfikacja modelu pod względem zdolności przewidywania farmakokinetyki leku w różnych populacjach i u indywidualnych pacjentów, którzy przedawkowali amitryptylinę. Przewidziane w modelu stężenie amitryptyliny i nortryptyliny zostało wykorzystane do symulacji wpływu amitryptyliny i nortryptyliny na elektrofizjologię ludzkiego serca zarówno w populacjach jak i u indywidualnych pacjentów po przedawkowaniu leku.

Cele 3 oraz 4 zostały przedstawione w bardzo rozległej opisowej formie. Fragment celu trzeciego, cytuję: „Model uwzględniał (…) model wyodrębniał (….) model został połączony (….) Model pozwalał oszacować (….) Model został użyty" zawiera elementy metodyczne, oraz elementy które odnoszą się do wyników. Fragment ten nie powinien znaleźć się w opisie celu i nie jest konieczny do tego aby ten cel doprecyzować. Fragment celu czwartego, cytuję: „(…) stężenie (…) zostało wykorzystane do symulacji (…)" podobnie jak w poprzednim przypadku odpowiada opisowi metod. Podobnie jak w poprzednim przypadku fragment ten nie powinien znaleźć się w opisie celu i nie jest konieczny do tego aby ten cel doprecyzować. Generalnie, przedstawione cele zostały sformułowane w sposób umożliwiający zrozumienie problemu, któremu poświęcona jest rozprawa i opisują go w wystarczającym stopniu.

W rozdziale „*Materials and Methods*" Doktorantka opisała kolejność prowadzonych prac. Posłużyła się również schematem który ułatwia zrozumienie i powiązanie kolejnych kroków. W sekcji zatytułowanej „*Software used*" w kliku przypadkach nie podano wersji zastosowanego oprogramowania. Mimo, że wersje te można odnaleźć w dołączonych publikacjach, należałoby konsekwentnie umieszczać tego rodzaju informacje również w tekście dysertacji (np.: FME package, Simcyp Simulator). W sekcji „*Model assumptions*" umieszczono założenie „*the compartments are homogenous*" które wydaje się być zbędne, ponieważ jest kluczowym założeniem kompartmentowej teorii rozmieszczania leków w organizmie. Na stronie 32 „*predicted AUC*" oraz „*observed AUC*" wyjaśnione zostały jako „*time – plasma concentration*" co jest swego rodzaju skrótem myślowym, jednak nie jest zgodne z obecnie przyjętą nomenklaturą. W tej części pracy mimo rozbudowanej sfery obliczeniowej przytoczono tylko dwa wzory (3.1 oraz 3.2). Wydaje się, że w tym elemencie pracy, Doktorantka powinna w bardziej swobodny sposób, przywoływać w postaci referencji cztery publikacje, stanowiące podstawę dysertacji. Podsumowując opis metod jest zrozumiały i świadczy o dużym doświadczeniu oraz samodzielności Doktorantki w zakresie optymalizacji złożonych modeli farmakometrycznych. Materiał przedstawiony w rozdziale „*Materials and Methods*" wymagał bardzo dobrego opanowania warsztatu badawczego oraz dużego zaangażowania. Materiał ilustracyjny w tej części dysertacji jest skromny, jednak wystarczający do prześledzenia kolejnych kroków prowadzonego postępowania.

W sekcji „*Results*" przytoczono wyniki w kolejności odpowiadającej postawionym w pracy celom. Wyniki zaprezentowane przez Doktorantkę przedstawiono w sposób syntetyczny i uporządkowany w trzech podsekcjach. W sekcji „*Model performance*" Autorka stwierdziła: „*There was good agreement between the observed data and model-predicted profiles.*". Stosowanie bardzo złożonych i zaawansowanych metod obliczeniowych, kłóci się ze stosowaniem określeń takich jak „*good agreement*". Szczególnie w odniesieniu do elementów oceny statystycznej lub walidacji modelu. Poza tym stwierdzeniem w omawianej sekcji nie przytoczono żadnych wyników. Są one dostępne w załączonych do dysertacji publikacjach. W omawianym rozdziale pomimo zastosowania bardzo złożonej, krokowej metodyki, zachowano przejrzystość przekazu prezentowanych wyników.

Uzyskane wyniki badań Doktorantka omówiła również w odniesieniu do badań innych autorów w rozdziale „*Discussion*". W rozdziale tym Doktorantka w odpowiednim zakresie odniosła się zarówno do interpretacji wyników własnych jak i dostępnych danych literaturowych. Dyskusję podzielono na trzy podrozdziały porządkujące poruszane zagadnienia. W oparciu o uzyskane wyniki Doktorantka sformułowała 6 zwięzłych wniosków,

które korespondują z postawionymi w pracy celami. W moim odczuciu ostatnie zdanie/konkluzja w sekcji „*Discussion*" również powinna być dołączona do postawionych wniosków.

Na stronie 53 (brak numeracji strony) w rozdziale „*Bibliography*", Doktorantka zestawiła pozycje piśmiennictwa, do których umiejętnie odwołuje się w dysertacji. Dane bibliograficzne są prawidłowo dobrane. Zakres piśmiennictwa świadczy o tym, że Doktorantka dokładnie przeanalizowała doniesienia powiązane z tematyką rozprawy. Na szczególną uwagę zasługuje przywołanie wielu wytycznych o zasięgu globalnym. Styl cytowanych źródeł jest jednolity. Spośród 180 pozycji wymienionych w bibliografii ponad połowa pochodzi z ostatnich 8 lat, co dowodzi aktualności problematyki poruszanej w dysertacji. Przytoczone piśmiennictwo w większości dotyczy oryginalnych prac doświadczalnych.

Począwszy od strony 71 Autorka w postaci załączników dołączyła prace oryginalne stanowiące podstawę dysertacji, dane surowe oraz bogaty materiał ilustracyjny.

Lektura recenzowanej dysertacji jest niezwykle inspirująca, zachęca również do dyskusji oraz postawienia kilku pytań Doktorantce:

Pytanie 1.

Czy w prowadzonych pracach zamiast języka R możliwe byłoby zastosowanie rozwiązań takich jak JULIA, które w moim przekonaniu mogłyby stanowić pewną alternatywę?

Pytanie 2.

W jakim kierunku zmierzają rozwiązania i metody walidacji wewnętrznej oraz zewnętrznej w odniesieniu do modeli PBPK.

Pytanie 3.

Czy walidacja zaprezentowanego modelu, rozszerzona o inne syntetyczne leki organiczne, może w przyszłości zwiększyć predykcyjność zaproponowanego narzędzia.

Pytanie 4.

Jaki jest potencjał aplikacyjny zaproponowanego rozwiązania w odniesieniu do szacowania kardiotoksyczności leków biologicznych.

Podsumowując stwierdzam, iż przedłożona do oceny rozprawa magister farmacji Zofii Tylutki spełnia wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk. Wyniki przedstawionych badań stanowią, nowatorskie osiągnięcie Doktorantki. Założone cele badawcze zostały w pełni osiągnięte. Wyniki prowadzonych prac poddano analizie w sposób zgodny z obecnymi trendami, dotyczącymi optymalizacji modeli farmakometrycznych. Zakres badań podjętych przez Doktorantkę jest szeroki, ma duże znaczenie poznawcze oraz wysoki potencjał aplikacyjny. Maszynopis pracy został przygotowany przejrzyście, tekst został napisany fachowym językiem, z dbałością o detale. Doktorantka wykazała się umiejętnością korzystania z literatury fachowej, opanowaniem złożonych metod tworzenia podstaw oraz optymalizacji modeli farmakometrycznych. Efekt prowadzonych badań pozwala na implementację zaproponowanego modelu zarówno w pracach naukowych, jak i zastosowaniach przemysłowych.

Przytoczone wyżej uwagi, głównie natury porządkującej lub redakcyjnej, nie umniejszają wartości merytorycznej recenzowanej rozprawy. Dlatego uważam, że przedłożona do recenzji praca doktorska, magister farmacji Zofii Tylutki pt.: „***Opracowanie farmakokinetycznego modelu serca służącego do wyznaczania surogatu frakcji aktywnej leku***" w pełni odpowiada warunkom określonym w artykule 13 ustęp 1, Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.).

Biorąc powyższe pod uwagę, przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o dopuszczenie magister farmacji Zofii Tylutki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Tomasz Grabowski