

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr farmacji Anny Glinki pt.:

„Wykorzystanie modeli matematycznych do oceny wpływu zmienności w populacji na efekt proarytmiczny i bezpieczeństwo stosowania leków”

Recenzję opracowano zgodnie z uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie z dnia 28-09-2015.

Badania dotyczące właściwości proarytmicznych stanowią podstawowy element weryfikacji bezpieczeństwa nowych substancji leczniczych. Ryzyko wystąpienia arytmii związanej ze stosowaniem leku jest elementem drobiazgowych analiz jeszcze na etapie wczesnych badań przedklinicznych. Kluczowe agencje rejestrujące leki w skali globalnej takie jak EMA czy FDA od dawna udostępniają wytyczne dotyczące badania wpływu leków na repolaryzację komórek oraz ryzyko działania proarytmicznego. Każdy podmiot odpowiedzialny za wprowadzenie nowego leku na rynek musi więc dostosować się do wymogów w zakresie „*safety pharmacology studies*”. Obecnie badania w tym zakresie stanowią wymóg globalny i wchodzi w skład wytycznych zharmonizowanych na poziomie International Conference on Harmonisation (ICH).

Obserwacja leku w farmakometrii zwykle wiąże się z równoczesną obserwacją zmienności badanego parametru. Zmienność międzyosobnicza oraz zmienność wewnątrzosobnicza są jednymi z podstawowych czynników decydujących o marginesie bezpieczeństwa lub skuteczności działania leku. Zmienność jako parametr sam w sobie stanowi niezwykle wartościowe źródło informacji o specyfice dynamiki lub kinetyki obserwowanych procesów. Jest jednak często niedoceniana, marginalizowana lub postrzegana wyłącznie w

kategoriach „niższej/wyższej precyzji” poczynionych obserwacji lub wpływu na istotność różnic w badaniach porównawczych.

W prezentowanej pracy analizie zaproponowano zastosowanie modeli matematycznych do oceny wpływu zmienności w populacji na efekt proarytmiczny i bezpieczeństwo stosowania leków. Podstawę pracy doktorskiej stanowi ciąg sześciu powiązanych ze sobą tematycznie publikacji naukowych.

Przeprowadzone badania obejmowały zaproponowanie nowych metod badawczych takich jak stworzenie generatora parametrów losowych opisujących kardiomiocyty. Analizę zmienności w populacji ochotników w warunkach wirtualnego badania klinicznego. Podjęto próbę symulacji wpływu rzadkich mutacji na kształt potencjałów czynnościowych lewej komory serca. W warunkach symulacji badano ponadto wpływ 6 różnych leków antypsychotycznych na zmienność QTc. Poddano analizie wpływ statusu metabolicznego CYP2D6 na efekt kardiologiczny po podaniu rysperydonu. Wreszcie podsumowano zdobytą wiedzę oraz doświadczenie poprzez stworzenie przesłanek do zaprojektowania oprogramowania do ekstrapolacji *in vitro/in vivo* efektu proarytmicznego. W pracy poruszono szeroki panel zagadnień powiązanych ze sobą w logiczny sposób. Zagadnienia te poruszają problemy bieżące i jednocześnie kluczowe z punktu widzenia prac rozwojowych nad lekiem.

Biorąc pod uwagę powyższe, wybór tematyki pracy doktorskiej obejmującej wykorzystanie modeli matematycznych do oceny wpływu zmienności w populacji na efekt proarytmiczny i bezpieczeństwo stosowania leków jest uzasadniony. Podjęte zadania badawcze są zdecydowanie aktualne i wielu miejscach mają nowatorski charakter.

Oceniana praca ma 50 stron maszynopisu, oraz kompletny tekst publikacji w formie załączników które stanowiły podstawę do napisania tekstu maszynopisu. W ramach maszynopisu można wyróżnić skrót w języku polskim oraz angielskim, listę sześciu publikacji na podstawie których powstał maszynopis pracy wraz z informacjami bibliometrycznymi, spis treści, wykaz stosowanych skrótów, wstęp, cele pracy, metodykę, omówienie wyników połączone z dyskusją, podsumowanie, podziękowania oraz piśmiennictwo.

Rozdział zawierający streszczenia w języku polskim oraz angielskim w syntetyczny sposób odzwierciedla całość rozprawy. Streszczenie w języku angielskim stanowi wierne tłumaczeniem tekstu polskiego.

Przedstawiona praca została wzbogacona o 5 rycin i 3 tabele. W pracy nie zamieszczono spisu tabel oraz spisu rycin obecnych w maszynopisie. W maszynopisie Doktorantka powołuje się na 92 wybrane pozycje bibliograficzne. Rozprawa napisana jest przejrzystie, poprawnym językiem z dbałością o szczegóły.

Do pracy nie dołączono oświadczeń współautorów publikacji oryginalnych na których oparto treść maszynopisu, o zgodzie na wykorzystanie ich treści w ocenianej dysertacji. W czterech z sześciu publikacji stanowiących podstawę pracy doktorskiej Doktorantka jest pierwszym autorem. W odniesieniu do czterech wymienionych publikacji Doktorantka nie dołączyła jednak oświadczeń autorów potwierdzających jej wiodącą rolę w publikowanych badaniach. Pięć z sześciu wymienionych publikacji znajduje się na liście MNiSW z grudnia 2014. Praca numer 1, 4, 5, 6 na liście A, natomiast praca numer 3 na liście B.

Spis treści jest poprawnie skonstruowany, pozwala na odszukiwanie poszczególnych rozdziałów/podrozdziałów w pracy. Pominęto w nim podrozdział pt. „Wykaz użytych skrótów i ważniejszych oznaczeń”. Zastosowany wykaz używanych skrótów ułatwia zrozumienie maszynopisu oraz treści załączonych publikacji. Wykaz ten nie jest jednak pełny brakuje w nim niektórych skrótów takich jak np. QTc, CYP2D6, CSS, IC50, CHO i innych. Przy pierwszym stosowaniu w tekście Doktorantka wyjaśniła zastosowane skróty. W przypadku anemona morskiego, w spisie skrótów powinna być przywołana odpowiednia nazwa łacińska.

We wstępie Doktorantka opisała podstawy anatomii i fizjologii serca. Następnie omówiła wpływ najważniejszych grup leków na elektrofizjologię serca, pod kątem oceny potencjału proarytmicznego. Rozdział zakończono opisem techniki *patch clamp* oraz podsumowaniem obecnego stanu wiedzy na temat matematycznego modelowania elektrofizjologii kardiomiocytów komorowych. Wstęp napisany został rzeczowo, w sposób jasny i zwięzły. Na uwagę zasługuje dojrzały styl. Poruszane w rozdziale zagadnienia zostały poparte odpowiednio dobranym piśmiennictwem i korespondują we właściwy sposób z tematem pracy. Świadczy to o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki do prowadzonych badań. W kilku miejscach Autorka nie ustrzegła się drobnych błędów edycyjnych i stylistycznych. W opisie anatomii tkanki mięśniowej serca pojawiło się „z tkanki mięśniowej typu sercowego”, powinno brzmieć z tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej typu sercowego. W tekście pojawia się także w formie pełnego zapisu „Międzynarodowa Konferencja do spraw Harmonizacji” natomiast powinien być zastosowany skrót ICH (strona 12 maszynopisu). W innym miejscu pojawia się zapis „i ssaki naczelne” doprecyzowanie ssaki nie wydaje się być w tym wypadku konieczne (strona 14 maszynopisu). W kolejnym akapicie pojawia się zapis „z odpowiednio długim okresem wypłukania”, powinien mieć brzmienie: „...z odpowiednio długim okresem wymywania leku” (strona 15 maszynopisu). Powyższe niedociągnięcia nie wpływają jednak na zdecydowanie wysoką ocenę jakości, merytorycznego przekazu zawartego we wstępie dysertacji.

W rozdziale „Cele pracy” Doktorantka sprecyzowała generalny cel pracy na który chciałyby uzyskać odpowiedź w trakcie zaplanowanych badań. Ponadto przedstawiła sześć celów szczegółowych związanych z publikacją sześciu prac oryginalnych stanowiących podstawę dysertacji. Przedstawione cele są prawidłowo sformułowane i w prawidłowym zakresie opisują problematykę, której poświęcona jest rozprawa.

Rozdział „Metodyka” ma zwarty charakter i odwołuje się do sześciu publikacji stanowiących podstawę dysertacji. Doktorantka odniosła się w nim do parametryzacji modelu, oraz źródeł zmienności takich jak wpływ okołodobowych zmian rytmu serca, oraz stężenia elektrolitów. Odniosła się również do zmienności typu SNP genów kodujących białka kanałów jonowych w błonie komórek sercowych. Omówiono również parametry dotyczące zmienności nie związane z kanałami jonowymi mającymi wpływ na stężenie leku. Ostatnim elementem rozdziału jest schemat badania *in silico*. W rozdziale tym Autorka zwraca uwagę na to że „Jednym z koniecznych etapów budowy modelu jest ocena jego rzetelności a więc zdolności odtworzenia opisywanych zjawisk.”. W rozdziale „Metodyka” Doktorantka nie odniosła się jednak do kwestii związanych z możliwością walidacji w proponowanych rozwiązaniach. W tym miejscu wydaje się również naturalne, przywołanie wytycznych OECD dotyczących oczekiwań wobec walidacji metod *in silico*.

Podsumowując, mimo pewnych niedociągnięć, materiał przedstawiony w rozdziale „Metodyka” wymagał dobrego opanowania warsztatu badawczego oraz dużego zaangażowania w jego ustrukturyzowanie i ewaluację. Materiał ilustracyjny w tej części pracy jest skromny, lecz wystarczający.

Wyniki zostały przedstawione łącznie z dyskusją w rozdziale „Wyniki i dyskusja”. Doktorantka przedstawiła je w sposób syntetyczny i uporządkowany. Rozdział składa się z sześciu podrozdziałów odnoszących się do wyników i dyskusji sześciu publikacji stanowiących podstawę dysertacji. Tytuły poszczególnych podrozdziałów sformułowano w języku angielskim, tymczasem powinny być sformułowane w języku polskim, podobnie jak wszystkie inne podtytuły i tytuły rozdziałów w pracy. Niektóre elementy rozdziału „Wyniki i dyskusja” powinny znaleźć się w sekcji poświęconej metodyce. Przykładem są następujące akapity: „Do części symulacyjnej wylosowano 10 grup po 10 osób w wieku między 18 a 65 rokiem życia.” (strona 33 dysertacji), lub „W procesie symulacji wykorzystano model O’Hara-Rudy dodając parametr opisujący procentową redukcję gęstości prądu (...) prowadzono symulacje dla różnych długości odstępu RR (...). Ocenianym punktem końcowym ponownie była wartość APD90.” (strona 34 dysertacji).

Konkluzje z prowadzonych prac sformułowano w rozdziale „Podsumowanie”. W rozdziale tym Doktorantka odniosła się do generalnego celu pracy oraz podsumowała problematykę tworzenia modeli matematycznych związanych z tematem pracy. Cennym uzupełnieniem tej sekcji, byłoby również wyrażenie w punktach, sześciu kluczowych, syntetycznych konkluzji („*bullet points*”) odpowiadających sześciu publikacjom stanowiącym podstawę rozprawy.

Mimo pewnych niedociągnięć natury porządkowej, w tekście całej pracy widoczne jest ogromne zaangażowanie Doktorantki w prowadzone badania i tworzenie poszczególnych elementów dysertacji. Zaprezentowana praca niema typowego przebiegu, jest pod wieloma względami nowatorska. Opisane w dysertacji badania przedstawiają logiczny ciąg prac zmierzający do aplikacji wyników w praktyce. Bezpośrednim efektem zaprezentowanych prac może być wzrost jakości badań związanych z procesem selekcji ksenobiotyków na podstawie ich proarytmicznego wpływu na kardiomiocyty. Pod tym względem prace prowadzone przez Doktorantkę odzwierciedlają najnowsze kierunki i potrzeby związane z przesiewowym badaniem „kandydatów” na leki.

W rozdziale „Piśmiennictwo”, Doktorantka zestawiała źródła, do których odwołuje się w tekście dysertacji przywołując je w odpowiedni sposób. Doktorantka skrupulatnie przeanalizowała dostępne źródła związane z tematyką pracy. Dane bibliograficzne zostały odpowiednio dobrane i przywołane z użyciem jednolitego stylu. Z pośród 92 źródeł wymienionych w bibliografii maszynopisu 35 obejmuje okres ostatnich 10 lat. Przytoczone piśmiennictwo w znakomitej większości dotyczy oryginalnych prac doświadczalnych. Ogółem w sześciu publikacjach stanowiących podstawę dysertacji wykorzystano 257 różnych źródeł z czego aż 238 stanowiły pozycje literaturowe. Na szczególną uwagę zasługuje fakt swobodnego posługiwania się przez Doktorantkę zarówno publikacjami naukowymi jak i wytycznymi agencji rejestracyjnych. Świadczy to o bardzo dojrzałej, i wielokierunkowej analizie zagadnień jakie poruszyła w pracy, zwykle typowej dla doświadczonych naukowców.

Podsumowując stwierdzam, iż przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr farmacji Anny Glinki spełnia wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk. Wyniki przedstawionych badań zostały opublikowane w specjalistycznych czasopismach i stanowią podsumowanie nowatorskich osiągnięć Doktorantki. Cele badawcze założone przez Doktorantkę zostały osiągnięte, a wyniki przeprowadzonych badań poddano weryfikacji. Zakres badań zrealizowanych przez Doktorantkę jest zdecydowanie szeroki, ma duże znaczenie praktyczne, poznawcze, oraz wysoki potencjał aplikacyjny. Maszynopis pracy został przygotowany z dużą dbałością o szczegóły, w sposób staranny. Oceniana praca napisana jest

przejrzystości, z zastosowaniem fachowej terminologii. Doktorantka wykazała się umiejętnością korzystania z literatury fachowej oraz opanowaniem złożonych metod analizy danych.

Przytoczone powyżej uwagi, głównie natury redakcyjnej lub porządkowej, nie umniejszają wartości merytorycznej recenzowanej rozprawy. Dlatego uważam, że przedłożona do oceny praca doktorska mgr farmacji Anny Glinki zatytułowana „*Wykorzystanie modeli matematycznych do oceny wpływu zmienności w populacji na efekt proarytmiczny i bezpieczeństwo stosowania leków*”, 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 mgr farmacji Anny Glinki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuje również o wyróżnienie wymienionej wyżej pracy doktorskiej mgr farmacji Anny Glinki.

dr hab. Tomasz Grabowski

