

Warszawa, dnia 18 czerwca 2023 r.

Dr hab. n. med. Ewa Bałkowiec-Iskra
Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja

**rozprawy na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o
zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne
mgr Łukasza Skalskiego
pt. „Ekspresja enzymów metabolizujących leki w przebiegu HCV”**

Stany patologiczne wątroby, prowadzące do upośledzenia jej funkcji są istotnym czynnikiem modyfikującym metabolizm leków. Schorzenia o podłożu wirusowym, w tym HCV są jednak rzadko identyfikowane przez lekarzy klinicystów jako przyczyna odmiennej odpowiedzi terapeutycznej pacjenta na zastosowane leczenie.

Wybór przedmiotu badań mgr Łukasza Skalskiego uważam za trafny i niezwykle cenny zarówno z perspektywy nauk podstawowych jak i praktyki klinicznej. Doktorant skoncentrował się na ocenie profilu ekspresji mRNA wybranych genów kodujących enzymy odpowiedzialne za metabolizm często stosowanych produktów leczniczych oraz na zbadaniu korelacji pomiędzy ekspresją mRNA tych genów a zawartością białka.

Praca przygotowana została w uznanej jednostce Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego, zaś zarówno promotor pracy – Pan prof. dr hab. n. med. Mateusz Kurzawski, jak i kierownik jednostki - Pan prof. dr hab. n.med. Marek Drożdżik są wybitnymi autorytetami naukowymi z zakresu farmakologii i genetyki zarówno w kraju jak i za granicą.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Łukasza Skalskiego liczy w całości 149 stron, obejmując poza tekstem głównym: 71 rycin (w tym wykresy) oraz 10 tabeli powiązanych tematycznie z pracą, wykaz stosowanych skrótów, spis tabel i rycin, streszczenie w języku polskim i angielskim, jak również 4

załączniki. W jednym z załączników zawarto artykuł opublikowanym w prestiżowym czasopiśmie z listy Filadelfijskiej, w którym opublikowano część wyników rozprawy. Bibliografia obejmuje 194 precyzyjnie dobrane pozycje piśmiennictwa. Rozprawa ma układ typowy i bardzo przejrzysty.

W zajmującym 42 stron Wstępie Autor szczegółowo przedstawia rolę, jaką wątroba odgrywa w metabolizmie leków, opisując wnikliwie poszczególne etapy biotransformacji leków. Doktorant słusznie zauważa, cytując w sposób właściwy odnośne dokumenty, iż zarówno EMA jak i FDA w procesie dopuszczania do obrotu produktów leczniczych wymagają przeprowadzenia badań farmakokinetyki leków w tzn. szczególnych populacjach pacjentów, do których należą również osoby z niewydolnością wątroby. Warto podkreślić, iż w przypadku niektórych produktów leczniczych, np. metabolizowanych przez wątrobę jedynie w bardzo niewielkim stopniu, wnioskodawca może ubiegać się o zwolnienie z przeprowadzenia tych badań.

Autor przytacza szereg przykładów leków, których metabolizm jest w znacznym stopniu zmieniony w przypadku występowania zmienności genetycznej dotyczącej enzymów CYP450. W bardzo przejrzystej i czytelnej formie przedstawiono zestawienie funkcji i przykładowych substratów enzymów biorących udział w metabolizmie leków.

Doktorant w bardzo szczegółowy sposób przedstawił też problematykę wirusowego zapalenia wątroby, podkreślając m.in. trudności diagnostyczne związane z ich rozpoznaniem na podstawie obrazu klinicznego. Wg danych WHO, na świecie jest około 170 milionów osób zakażonych wirusem HCV. Autor opisuje obraz kliniczny samego zakażenia, przedstawia też niezwykle interesujące zestawienie zarejestrowanych przypadków zakażeń HCV w Polsce w latach 2005-2012.

Doktorant szczegółowo opisuje oraz przedstawia na bardzo czytelnych rycinach budowę wirusa HCV, właściwości jego RNA oraz głównych białek wirusa, co znacznie ułatwia zrozumienie problematyki podejmowanego tematu badań. W ostatnim rozdziale niezwykle interesującego Wstępu Rozprawy, przedstawiono farmakoterapię zakażeń HCV na przestrzeni lat, koncentrując się na najnowszych strategiach terapeutycznych.

W postaci tabeli Autor przedstawił zalecane dawkowanie oraz działania niepożądane wybranych klas leków stosowanych w tym wskazaniu. Opisano też

przebieg metabolizmu nowych leków stosowanych w leczeniu zakażenia HCV.

Należy podkreślić, iż Wstęp Rozprawy został napisany bardzo przejrzysto i zwięźle, jego układ oraz podział na podrozdziały są odpowiednie i nie wzbudzają zastrzeżeń.

Postawione cele pracy:

- ocena profilu ekspresji mRNA wybranych genów kodujących enzymy związane z metabolizmem leków w bioptatach wątroby pobranych od pacjentów z niewydolnością tego organu w przebiegu HCV oraz w grupie kontrolnej,
- ilościowe określenie zawartości białek wybranych enzymów CYP450 i UGT w bioptatach wątroby u pacjentów z niewydolnością wątroby w przebiegu HCV oraz w grupie kontrolnej,
- określenie korelacji pomiędzy ekspresją mRNA badanych genów a zawartością białka,
- analiza związku pomiędzy wybranymi wariantami genetycznymi a ekspresją genów związanych z metabolizmem leków na poziomie mRNA i białka,

są trafne, dobrze przemyślane i mają nowatorski charakter, co potwierdza zasadność przeprowadzenia badań.

Rozdział Materiał i metody badania przedstawiony na 11 stronach nie budzi jakichkolwiek wątpliwości. Wybrana przez Doktoranta metodyka badań jest odpowiednia do uzyskania odpowiedzi na postawione cele pracy. Warto podkreślić, iż zarówno grupa badana jak i kontrolna były poprawnie zbalansowane pod względem płci i wieku. Materiał do badań stanowiły fragmenty tkanki wątrobowej pobrane od pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem okrężnicy (grupa kontrolna) oraz od pacjentów chorujących na zapalenie wątroby typu C, zakwalifikowanych do przeszczepienia tego organu (grupa badana). Zastosowane testy statystyczne są poprawne i nie budzą zastrzeżeń.

Autor poprawnie określa potencjalne korzyści z prowadzonych badań, podkreślając ich przydatność w ocenie biodostępności i farmakokinetyki produktów leczniczych w przebiegu chorób infekcyjnych wątroby.

Rozdział Wyniki, z uwzględnieniem danych - zawartych w rycinach i wykresach, liczy 36 stron. Autor przedstawił uzyskane wyniki we właściwej kolejności, prezentując najpierw dane wspierające tezę, iż przebieg HCV może mieć istotny wpływ na ekspresję niektórych genów, biorących w metabolizmie produktów leczniczych zarówno na poziomie RNA jak i białka. W kolejnym podrozdziale przedstawiono analizę wykazującą pozytywną korelację pomiędzy ekspresją

mRNA badanych genów a zawartością białka. W ostatnim podrozdziale Wyników, opisano zależności pomiędzy wybranymi wariantami genetycznymi a ekspresją genów związanych z metabolizmem leków na poziomie mRNA i białka u pacjentów z HCV. Doktorant zaznacza, iż do badania włączono jedynie pacjentów z populacji polskiej, co umożliwiło wyeliminowanie czynnika etnicznego.

W obejmującym 11 stron rozdziale Dyskusja Autor w sposób umiejętny, obiektywny i krytyczny odnosi się do uzyskanych wyników, nawiązując do adekwatnie dobranego aktualnego piśmiennictwa. Doktorant słusznie identyfikuje możliwe ograniczenia dotyczące pomiaru stężenia białek metabolizujących produkty lecznicze w grupie kontrolnej.

Doktorant przedstawia 5 jednoznacznie sformułowanych wniosków, ściśle odnoszących się do celów Rozprawy. Mają one charakter nowatorski, co dowodzi poprawności wybranego tematu pracy a sama rozprawę czynią niezwykle interesującą i wartościową. W mojej ocenie najistotniejsze z punktu widzenia przyszłych badań oraz potencjalnego zastosowania wyników pracy w praktyce klinicznej są wnioski 4 i 5.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską mgr Łukasza Skalskiego, stwierdzam, iż stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz dowodzi samodzielności i wnikliwości Doktoranta w prowadzeniu badań. Doktorant wykazał się umiejętnością sprawnej interpretacji uzyskanych wyników oraz zdolnością właściwego osiągnięcia celu pracy jak też poprawnego przygotowania jej pod względem językowym i stylistycznym.

Pomimo bardzo wnikliwego i jasnego przedstawienia tematu, następujące pytania wymagają odpowiedzi ze strony Doktoranta:

1. Uzasadnienia wymaga wybór oraz liczebność grupy kontrolnej.
2. Wskazane byłoby krótkie przedyskutowanie potencjalnego wpływu chorób współistniejących u pacjentów z grupy badanej na uzyskane wyniki.
3. Czy czas trwania zakażenia HCV u poszczególnych pacjentów mógł mieć wpływ na uzyskane w pracy wyniki.

Wszelkie uwagi przytoczone w recenzji nie stanowią wniosków dot. uzupełnienia lub poprawy rozprawy doktorskiej w ujęciu §6.6 rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 26 września 2016 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora, tj. rozprawa nie wymaga ponownej oceny. Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska 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 (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789), tj. stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydatki w dyscyplinie nauki medyczne oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. W związku z powyższym, zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Nauk Medycznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie Pana mgr Łukasza Skalskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Mając na względzie unikatowy charakter badań jak też ich wartość kliniczną mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Nauk Medycznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie wniosek o wyróżnienie Rozprawy.



Dr hab. n. med. Ewa Bałkowiec-Iskra