

Kraków, 21.08.2019 r.



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

RECENZJA

pracy doktorskiej wykonanej przez

mgr farm. Justynę Ber

**pt.: „Populacyjna analiza farmakokinetyki i farmakodynamiki
deksmedetomidyny w różnych grupach pacjentów”**

Deksmedetomidyna jest stosunkowo nowym lekiem stosowanym do wywołania lekkiej sedacji dorosłych pacjentów przebywających na oddziałach intensywnej opieki medycznej. Ponadto może być podawana przed i/lub w trakcie operacji i procedur medycznych. Lek ten znajduje zastosowanie także poza zarejestrowanymi wskazaniami, jako adiuwant znieczuleń, w premedykacji i indukcji znieczulenia oraz jako lek wspomagający w leczeniu uzależnień. Pomimo braku rejestracji do podawania młodszym pacjentom, lek ten jest szeroko stosowany w populacji pediatrycznej na całym świecie. W literaturze istnieją liczne doniesienia na temat farmakokinetyki deksmedetomidyny u dorosłych, niewiele jest jednak danych na temat farmakokinetyki tego leku u niemowląt i dzieci, a także u dorosłych otrzymujących ten lek w postaci wlewu trwającego dłużej niż 24 h. Niemniej istotnym jest także głębsze poznanie czynników wpływających na farmakokinetykę i farmakodynamikę tego leku, co może ułatwić wybór schematu dawkowania. Doskonałym narzędziem do poszukiwania takich zależności jest analiza populacyjna.

Praca doktorska mgr farm. Justyny Ber wykonana pod kierunkiem naukowym dr hab. n. farm. Agnieszki Bienert obejmuje wymienione wyżej zagadnienia. Koncentruje się ona wokół stosunkowo słabo jeszcze poznanej farmakokinetyki i farmakodynamiki deksmedetomidyny w populacji pacjentów pediatrycznych i osób dorosłych przebywających na oddziałach intensywnej terapii z tzw. wskazań życiowych, po operacji wszycia protezy naczyniowej oraz po operacyjnym usunięciu guzów głowy i szyi. Praca realizowana była przy współpracy z licznymi jednostkami klinicznymi Uniwersytetu Medycznego im K. Marcinkowskiego w Poznaniu: Oddziałem IX Anestezjologii i Intensywnej Terapii Pediatrycznej Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera, Oddziałem Klinicznym Anestezjologii, Intensywnej Terapii i Leczenia Bólu Szpitala Klinicznego im. Heliodora Świącickiego, Oddziałem Anestezjologii

Wydział Farmaceutyczny

Zakład Farmakokinetyki
i Farmacji Fizycznej

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48 12 620 57 20

fax +48 12 620 57 30

farmakokinetyka@uj.edu.pl

i Intensywnej Terapii Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego oraz Oddziałem Anestezjologii i Intensywnej Terapii Wielkopolskiego Centrum Onkologii, a także katedrami Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Badania realizowane były w ramach grantu NCN (konkurs OPUS 9), w którym Doktorantka była wykonawcą oraz dwóch grantów uczelnianych dla młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich.

Rozprawa doktorska mgr Justyny Ber liczy łącznie 234 strony. We Wstępie Doktorantka uzasadnia celowość prowadzonych badań, następnie przedstawia cel pracy, który jest jasno sprecyzowany i bardzo ambitny. Dalsze rozdziały to obszerna część teoretyczna, metodyka badań, omówienie i dyskusja wyników oraz wnioski, a także aż 372 pozycje literaturowe, które umiejętnie cytowane są w tekście. W części teoretycznej swojej pracy Doktorantka szeroko omawia mechanizm działania i farmakokinetykę deksmedetomidyny w różnych subpopulacjach chorych (dorośli, dzieci, niemowlęta). Wskazuje czynniki modyfikujące procesy farmakokinetyczne, w tym szczególną uwagę poświęca polimorfizmowi genów kodujących enzymy metabolizujące ten lek. Zwraca uwagę na zastosowanie deksmedetomidyny w klinice, jej skuteczność i bezpieczeństwo. Zastosowanie badanego leku omówiono osobno dla oddziałów intensywnej terapii, podczas procedur medycznych, przy podaniu okołoperacyjnym, jako adiuwant terapii przeciwbólowej, czy w terapii zespołów abstynencyjnych lub majaczenia. Przedyskutowano przydatność tego leku w populacji pacjentów pediatrycznych, geriatrycznych i onkologicznych. Przedstawiono też działania niepożądane związane z podawaniem tego leku oraz jego interakcje z innymi równocześnie stosowanym lekami.

Część metodyczna napisana jest w sposób jasny i przejrzysty. Zawiera wszystkie szczegóły dotyczące stosowanych technik i metod obliczeniowych. Przedstawiono protokoły badań dla wszystkich grup pacjentów, dla każdego pacjenta zgromadzono dużą liczbę danych demograficznych, które następnie zostały wykorzystane w modelach populacyjnych jako zmienne towarzyszące. Precyzyjnie opisano sposób tworzenia modeli populacyjnych oraz zastosowane kryteria oceny dobroci dopasowania i metodę badania wydajności predykcyjnej modelu. Dużo miejsca poświęcono metodom stosowanym w badaniach genetycznych, które dostarczyły bardzo cennych informacji na temat polimorfizmów genów kodujących enzymy metabolizujące demedetomidynę w populacji polskiej. Co więcej, Doktorantka badała nie tylko geny kodujące

enzymy cytochromu P450, ale także UDP-glukuronylotransferazę oraz gen kodujący receptor α_{2A} -adrenergiczny (ADR2A).

Przeprowadzone badania, które obejmowały grupę 75 pacjentów z 4 oddziałów intensywnej terapii dostarczyły wielu interesujących danych. Przede wszystkim wskazują na dużą zmienność międzyosobniczą w farmakokinetyce i farmakodynamice deksmedetomidyny, co potwierdza konieczność prowadzenia dalszych badań klinicznych nad tym lekiem. Farmakokinetykę leku we wszystkich badanych populacjach chorych najlepiej opisywał model 2-kompartamentowy, zaś efekt farmakologiczny - modele odpowiedzi bezpośredniej: model liniowy i model E_{max} . Celem wyjaśnienia przyczyn zmienności w wartościach parametrów farmakokinetycznych i farmakodynamicznych, w analizie populacyjnej uwzględniono wiele zmiennych towarzyszących, takich jak: dane demograficzne pacjentów, wyniki badań biochemicznych, czy polimorfizmy 7 genów kodujących enzymy metabolizujące badany lek oraz gen związany z efektem farmakologicznym. Spośród analizowanych zmiennych towarzyszących tylko dwie z nich: polimorfizm CYP1A2*1F i podanie amin katecholowych zmniejszyły zmienność międzyosobniczą i powinny być brane pod uwagę w doborze dawki badanego leku. Opracowany model populacyjny może być użyteczny w indywidualizacji dawkowania deksmedetomidyny zarówno u pacjentów dorosłych, jak i pediatrycznych. Ważnym aspektem pracy są badania genetyczne. Pozwoliły one na porównanie częstości występowania genotypów enzymów metabolizujących leki w populacji polskiej w stosunku do europejskiej oraz innych grup etnicznych. Badania te wykazały znaczne podobieństwa pomiędzy populacją polską i populacją pozostałej części Europy. Znaczne różnice zaobserwowano jedynie w częstości występowania genotypu C/C i C/T dla polimorfizmu CYP2D6*4. Jak wiadomo izoenzym CYP2D6 zaangażowany jest w metabolizm bardzo wielu ważnych z klinicznego punktu widzenia leków i jest przyczyną dużej zmienności w farmakokinetyce tych leków, zwłaszcza w populacji kaukaskiej.

Omówienie i dyskusja wyników są wnikliwie i rzeczowe. Doktorantka często odwołuje się do danych literaturowych i bardzo trafnie interpretuje uzyskane wyniki. W logiczny sposób wyjaśnia przyczynę braku zależności pomiędzy wyznaczonymi wielkościami oraz wskazuje dalsze kierunki badań nad farmakokinetyką badanego leku. Sposób prowadzenia dyskusji wskazuje na doskonałą znajomość poruszanej tematyki oraz dużą wiedzę Doktorantki na temat badanego leku, jego farmakologii i właściwości farmakokinetycznych, sposobu

dawkowania w różnych populacjach pacjentów, monitorowania sedacji, innych leków stosowanych równocześnie na oddziałach intensywnej terapii oraz analizy populacyjnej z wykorzystaniem skomplikowanego oprogramowania. Wnioski stanowią bardzo trafne podsumowanie całej pracy, dostarczając jednocześnie wskazówek dotyczących sposobu dawkowania deksmedetomidyny u pacjentów w różnym wieku i stanie klinicznym. Współpraca z tak licznymi ośrodkami oraz zebranie danych klinicznych od 75 pacjentów wskazują na umiejętność współpracy z lekarzami, pozostałym personelem medycznym oraz pracownikami z innych ośrodków uniwersyteckich zaangażowanych w realizację projektu. Ponadto szeroki zakres prowadzonych badań wymagał od Doktorantki dużego zaangażowania, determinacji i znajomości wielu technik badawczych. Uzyskane wyniki posiadają duży potencjał aplikacyjny. Przede wszystkim dostarczają wskazówek dotyczących sposobu dawkowania badanego leku oraz planowania przyszłych badań klinicznych nad deksmedetomidyną, a także wskazują czynniki, które należy uwzględnić podczas wyboru sposobu dawkowania badanego leku.

Praca napisana jest nienagannie zarówno pod względem stylu, jak i poprawności gramatycznej. Bogate dane dotyczące pacjentów w grupach badanych przedstawiono w postaci licznych tabel i rycin. Wyniki te zostały porównane z danymi literaturowymi i właściwie zinterpretowane. Doktorantka załączyła także Uchwały Komisji Bioetycznych dotyczące opinii na temat prowadzonych badań, protokoły badań klinicznych oraz wartości wskaźników biochemicznych badanych chorych przed rozpoczęciem podawania leku.

W badaniach wykorzystano nowoczesne metody badawcze, które są adekwatne do rodzaju prowadzonych badań. Do oznaczenia stężeń badanych związków zastosowano metodę LC/MS/MS, natomiast w badaniach genetycznych zastosowano technikę real-time PCR-HRM. Startery do reakcji PCR zaprojektowano w oparciu o program Oligo 7.6, a analizę farmakokinetyczną i farmakokinetyczno-farmakodynamiczną przeprowadzono z wykorzystaniem programu NONMEM wersja 7.2.0 oraz Wings for NONMEM. Wykresy sporządzono w programie Matlab. W analizie farmakokinetycznej zastosowano model 2-kompartmenny dla wlewu dożylnego, natomiast w analizie danych farmakodynamicznych - model liniowy i model E_{max} , gdzie jako markery odpowiedzi na lek wykorzystano wartości indeksu bispektralnego i rzutu serca. Badania genetyczne obejmowały 12 wariantów polimorficznych genów kodujących enzymy metabolizujące badany lek i jeden wariant genu związanego

z jego farmakodynamiką. Farmakokinetyczna analiza populacyjna obejmowała dużą grupę, bo aż 70 pacjentów, a w trakcie budowania modeli populacyjnych wykorzystano szeroki wachlarz zmiennych towarzyszących.

Po zapoznaniu się z przedstawioną do recenzji pracą nasuwają się następujące uwagi:

- Nie objaśniono w jaki sposób obliczono objętość dystrybucji w stanie stacjonarnym (V_{ss}) (Rycina 12).
- Szkoda, że nie podjęto próby określenia fenotypu chociaż u części badanych chorych. Pozwoliłoby to na identyfikację zjawiska fenokonwersji, które często zaburza interpretację wyników badań genetycznych w przypadku polipragmazji.
- Nie oznaczono stężeń metabolitów deksmedetomidyny we krwi badanych chorych, chociaż zastosowana technika analityczna umożliwia taką analizę (lub, w przypadku braku standardów, przynajmniej ocenę zmian stężeń metabolitów). Dostęp do takich danych mógłby być przydatny w zrozumieniu przyczyn różnicowania w farmakokinetyce leku macierzystego, zwłaszcza w kontekście genotypu pacjenta.
- Nie odniesiono uzyskanych wartości stężeń leku we krwi do zakresu stężeń terapeutycznych.
- W badaniach genetycznych nie wspomniano o możliwej duplikacji i multiplikacji genu CYP2D6, które są uważane za źródło ultraszybkiego metabolizmu.
- wytyczne EMA i FDA odnośnie parametrów walidacji metod analitycznych różnią się nieco, stąd należało wybrać wytyczne jednej z tych agencji (str. 75).

Ponadto w pracy można napotkać drobne błędy, głównie edytorskie np. takie jak:

- brak nawiasu w równaniu 5,
- stała szybkości elminiacji zamiast eliminacji (str. 127),
- rycina 8 i towarzyszący jej tekst powtarzają się na kolejnych stronach,
- wartości stężeń deksmedetomidyny podawano zamiennie w nM i ng/ml, co istotnie utrudnia porównanie przedstawionych w tekście danych (str. 20),
- delecja genu CYP2A6 (wariant CYP2D6*4) (str. 29) – w nawiasie powinno raczej być CYP2A6*4,
- w technice SPE wykorzystuje się najczęściej podciśnienie (str. 76)
- kilkakrotnie użyto słowa ilość zamiast objętość próbki czy waga zamiast masa ciała.
- celem zamiast cele (str. 176).

Przedstawione uwagi nie umniejszają wysokiej oceny merytorycznej pracy, która jest bardzo wartościowa i nowatorska, a zawarte w niej dane i sposób analizy świadczą o dużej wiedzy i umiejętnościach Doktorantki, nie tylko w zakresie prowadzenia prac analitycznych i badań klinicznych, ale także analizy populacyjnej.

Mgr Justyna Ber jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego, a obecnie słuchaczką Studiów Doktoranckich w Katedrze i Zakładzie Farmacji Klinicznej i Biofarmacji UMP. W Jej dorobku naukowym znajdują się łącznie 4 prace, (w dwóch jest pierwszym autorem) o łącznym impact factor 1,673 (45 punktów MNiSW) oraz 4 doniesienia zjazdowe. Część wyników przedstawionych w pracy doktorskiej została opublikowana w pracy o zasięgu międzynarodowym oraz była przedmiotem dwóch doniesień konferencyjnych.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że recenzowana praca jest niezwykle ambitna i oryginalna. Dostarcza danych na temat częstości występowania genotypów głównych enzymów metabolizujących deksmedetomidynę w populacji polskiej. W niewielu pracach farmakokinetycznych analizowano tak dużą liczbę zmiennych towarzyszących podczas budowania modelu populacyjnego. Ponadto praca zawiera wiele interesujących danych dotyczących farmakokinetyki i farmakodynamiki deksmedetomidyny u pacjentów pediatrycznych i dorosłych leczonych na oddziałach intensywnej terapii. Stanowi ona twórczy wkład Doktorantki w rozwój farmakokinetyki klinicznej i farmakoterapii w Polsce oraz spełnia warunki określone w art. 13.1 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. zmianami). W związku z tym, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie mgr Justyny Ber do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zakład Farmakokinetyki
i Farmacji Fizycznej UJ CM

G. W. Myska
prof. dr hab. E. Pieta Wyska
kierownik