

Bydgoszcz, 20.10.2022

### **Dot. oceny rozprawy doktorskiej Pana Alireza Tafazoli**

Ocenę przygotowano w związku z pismem Pani prof. dr hab. Iriny Kowalskiej, Dziekana Wydziału Lekarskiego z dnia 03.10.2022, po wcześniejszej decyzji Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 29.09.2022.

#### **Informacje ogólne**

Podstawą ubiegania się Pana Alireza Tafazoli o stopień naukowy doktora jest rozprawa na temat: “Complete clinical pharmacogenomic profiling, new insight for the future of personalized drug therapy” przygotowana w języku angielskim. Promotorami pracy są: Prof. Wojciech Miłyk z Zakład Analizy i Bioanalizy Leków Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku i Dr. Jesse J. Swen z Department of Clinical Pharmacy and Toxicology, Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden w Holandii. Rozprawa doktorska oparta jest na serii trzech artykułów. Dwie spośród prac to artykuły przeglądowe, trzecia jest oryginalną pracą badawczą. Dysertacja ma typową strukturę, w której nadrzędne miejsce zajmują publikacje wchodzące w cykl. Dodatkowo w pracy znajdujemy wstęp, cel badań, krótkie podsumowanie metodologii, wyników i dyskusji z następującymi wnioskami i podsumowaniem osiągniętych rezultatów. Całości dopełniają streszczenia w języku polskim i angielskim, bibliografia, oświadczenia współautorów oraz lista dorobku Doktoranta. Prace przeglądowe opublikowano w roku 2021, pracę oryginalną w 2022, wszystkie w czasopismach z listy JCR. Sumaryczny Impact Factor tych prac to 14.51, co przekłada się na 380 punktów ministerialnych. We wszystkich publikacjach Kandydat jest pierwszym autorem, a jego wkład w poszczególne publikacje wynosi od 50 do 74%.

#### **Ocena pracy doktorskiej**

Farmokogenetyka i farmakogenomika od lat pozostają w centrum zainteresowania naukowców na całym świecie jako potencjalne narzędzie w terapii spersonalizowanej. Pierwsze

wzmianki o farmakogenetyce pochodzą z 1961 roku, choć zgodnie z danymi bazy Scopus, niemal liniowy wzrost publikacji z tej tematyki rozpoczął się w końcu lat dziewięćdziesiątych ubiegłego stulecia osiągając szczyt w latach 2008-2014. Od tego czasu liczba prac naukowych w których słowem kluczowym jest farmakogenetyka powoli spada, w dalszym ciągu utrzymując jednak wysokie wartości (w roku 2021 liczba ta wynosiła 1207). Rzeczony spadek nie był jednak związany ze zmniejszającym się zainteresowaniem tematyką, lecz, paradoksalnie, jej ogromnym rozwojem. Mianowicie, w roku 1997 pojawiło się po raz pierwszy określenie farmakogenomiki, nauki, gdzie analiza genetyczna skupiona na działaniu leków przeszła transformację z badań celowanych na szersze profilowanie całych fragmentów genomu. W roku 2021 ilość prac związanych z farmakogenomiką osiągnęła 932 pozycje, co jednoznacznie tłumaczy wspomniany spadek artykułów traktujących o farmakogenetyce. Ogólne liczby odnoszące się odpowiednio do liczby publikacji naukowych z zakresu farmakogenetyki i farmakogenomiki to 29685 i 15226. W tym miejscu należy zaznaczyć ogromny wkład w rozwój obu dyscyplin, a przede wszystkim farmakogenomiki, Dr. Swena, który plasuje się w pierwszej 15 naukowców publikujących w rzeczonym temacie. Z kolei Prof. Milyk jest rozpoznawalnym ekspertem w zakresie analizy biofarmaceutycznej, a dysertacja doktorska przedstawiona przez Pana Alireza Tafazoli pod kierunkiem obu naukowców stanowi doskonały przykład współpracy interdyscyplinarnej skutkującej ciekawymi i ważnymi wynikami oraz wnioskami wskazującymi nowe kierunki w ciągle rozwijającej się dziedzinie.

W pracy doktorskiej Pana Alireza Tafazoli dwie spośród publikacji wchodzących w cykl to prace przeglądowe, z czego jedna traktuje o stosowaniu w praktyce klinicznej platform sekwencjonowania nowej generacji do testowania farmakogenomicznego. Praca została opublikowana w czasopiśmie *Frontiers in Pharmacology – Pharmacogenetics and Pharmacogenomics section* o współczynniku oddziaływania Impact Factor 5.988 i punktach MEiN 100. Na moment przygotowywania niniejszej recenzji artykuł zyskał 5 cytacji, co stanowi dobry wynik biorąc pod uwagę fakt jego opublikowania w sierpniu 2021 roku. Autorzy przedstawili krótko technologie, które są najczęściej stosowane w genomice klinicznej i podsumowali wyniki dotychczasowych badań przeprowadzonych z użyciem tych metod. Główny nacisk położyli jednak na dyskusję wyzwań, które wiążą się z zarządzaniem otrzymanych danych, ich opracowywaniem i interpretacją. Wskazano rozwiązania jakie są obecnie dostępne i omówiono w jakim stopniu adresują one wskazane wcześniej problemy. Szczególnie podkreślano braki w oprogramowaniu umożliwiającym analizę i interpretację

wariantów o nieznanym klinicznie znaczeniu (variants with unknown clinical significance, VUS), niewystarczający zasięg w odniesieniu do niektórych części genomu przy użyciu różnych platform, ograniczona zdolność oceny funkcjonalności wariantów in vitro oraz poprzez podejście obliczeniowe. Warto podkreślić, że tego typu problemy z identyfikacją i interpretacją szeroko pojętych „nieznanych” lub nieopisanych dotychczas obszarów genomu, metabolomu, transkryptomu czy proteomu stanowi swoiste „wąskie gardło” analiz omicznych. Postęp technologiczny, zwłaszcza w zakresie aparaturowym, ale także preparatyki próbek, podnosi bioanalizę na inny poziom. Jednak związana z tym ogromna liczba gromadzonych danych powoduje, że znaczna ich większość jest niewykorzystana i często „oczekuje” na narzędzia, które pozwolą zintegrować wiedzę z zakresu biologii, fizjologii i nauk pokrewnych z surowymi wynikami, których otrzymanie nie stanowi już większego problemu. Aspektem, który w moim przekonaniu jest istotny, to integracja informacji z różnych poziomów omicznych. Wprawdzie ten temat leży poza zakresem przedstawionej dysertacji, jednak, biorąc pod uwagę bardzo dobrą znajomość tematu opracowywania danych i dostępności różnych narzędzi in silico, chciałam poznać opinię Doktoranta czy równoległa analiza danych genomicznych, transkryptomicznych i metabolomicznych mogłaby pomóc w zrozumieniu tych „białych plam” czyli tzw. „unknowns” pojawiających się zarówno w analizach genomu czy metabolomu czy, biorąc pod uwagę trudności już towarzyszące indywidualnym analizom, wprowadziłyby ona dodatkowe znaki zapytania i prowadziła do ślepych zaułków? Początki farmakometabolomiki wiązały się w dużym stopniu z przekonaniem, że farmakogenomika nie przynosi spodziewanych rezultatów, bo informacje zawarte w genach ukazują pewien potencjał, nie uwzględniając jednak czynników mających wpływ na ich ekspresję. Z kolei ilość czynników (np. środowiskowych) obserwowana w badaniach metabolomicznych, ich różnorodność w badanej populacji i niejednokrotnie niełatwy do określenia wpływ na metabolom stanowi ogromne wyzwanie zarówno z punktu widzenia planowania badań populacyjnych, jak i właśnie analizy i interpretacji danych. Podobnie jak w przypadku farmakogenomiki do opracowania danych stosuje się coraz nowsze rozwiązania in silico, włączając sztuczną inteligencję czy nauczanie maszynowe (machine learning). Oczywiście wśród dostępnych oprogramowań, włączając te oferowane przez producentów instrumentów dedykowanych danym analizom, są opcje pozwalające na integrację danych omicznych, jednak, według mojej wiedzy, pozwalają na analizę „znanych” obszarów. Jaka według

Kandydata będzie kolejność rozwoju takich programów i baz danych oraz jakie podejścia mają największą szansę na spełnienie oczekiwań badaczy?

W kolejnym artykule, który został opublikowany w roku 2021 w czasopiśmie *Journal of Clinical Medicine* o IF 4.964 i MEiN 140 autorzy skupili się na omówieniu różnych typów wariantów farmakogenomicznych otrzymanych z wykorzystaniem sekwencjonowania nowej generacji w badaniach klinicznych. Dyskutowano m.in. różnice w interpretacji wyników pochodzących z różnych platform oraz luki w postaci jasnych wytycznych do eksploatacji tych danych w praktyce klinicznej. W ostatniej publikacji będącej pracą oryginalną Doktorant podjął próbę zaadresowania części problemów, które zidentyfikował i omówił w przytoczonych artykułach przeglądowych. Praca ta została przyjęta do druku w czasopiśmie *Pharmacogenomics Journal* o IF 3.550 i MEiN 140. Przeprowadzone badania objęły pilotażową grupę 50 pacjentów z chorobami układu krążenia i tyle samo osób zdrowych służących jako grupa kontrolna. Autorzy zastosowali podejście służące przeanalizowaniu całościowemu egzomu ekstrahując 1800 genów w obrębie mniej poznanego farmakogenomu, które poddano głębokiej filtracji i ocenie funkcjonalności. Równocześnie porównano możliwości i efektywność różnych narzędzi bioinformatycznych w odniesieniu do analizy wariantów w znanych i dobrze opisanych genach farmakogenomu. Ocena haplotypów i diplotypów dziewięciu podstawowych farmakogenów pozwoliła wytypować Stargazer jako narzędzie oferujące analizy obarczone najmniejszą liczbą błędów. Jednak szczegółowe porównanie wyników pozwoliło na wskazanie cech każdej z testowanych strategii, których pozostałe nie posiadają, a tym samym konkludować, że żadna z opcji nie pozwala uzyskać w pełni zadowalających rezultatów. W związku z tym autorzy zasugerowali stosowanie co najmniej dwóch narzędzi bioinformatycznych zwiększających wiarygodność analiz. Ponadto wykazano, że ogólnodostępne i powszechnie stosowane narzędzia bioinformatycznie nie spełniają oczekiwań w odniesieniu do wszystkich typów wariantów farmakogenomicznych, zwłaszcza nowych o nieznanym znaczeniu. W zaproponowanym schemacie analiz zaadresowano ten problem wskazując na zasadne stosowanie filtracji regionów farmakogenomicznych z plików VCF przed następującą walidacją *in silico*. Bazując na przeprowadzonych analizach zaproponowano sposób wykorzystania uzyskanych informacji zarówno w formie ich deponowania w odpowiednio chronionej bazie danych wraz z zaleceniami CPIC i DPWG i informacjami o nowych wariantach oraz indywidualnych kart pacjenta pozwalających na szybki dostęp do jego danych farmakogenomicznych w warunkach

klinicznych (np. szpitalu, przychodni). Oczywiście, w pojedynczych badaniach prowadzonych na relatywnie małą skalę nie sposób wskazać jednoznacznie rozwiązań, które mogłyby zostać zaimplementowane w praktyce klinicznej na szeroką skalę. Jednak wielowątkowość pracy Pana Alireza Tafazoli i detaliczna analiza otrzymanych wyników na poszczególnych poziomach prowadzonych badań pozwoliła uzyskać nowy punkt widzenia i zaproponować rozwiązania, które w mojej ocenie, powinny być testowane i walidowane zarówno przez ich autorów, jak również niezależne grupy badawcze na różnych zestawach danych. Każda bowiem próba ujednolicenia protokołów i wprowadzenia zmian dających szansę na ich wdrożenie w praktyce klinicznej z korzyścią dla pacjentów przybliży nas do rzeczywistego zastosowania terapii spersonalizowanej.

Jednocześnie proszę Kandydata o odniesienie się do faktu, że mimo, iż FDA zatwierdziło ponad 200 markerów genetycznych, a Amerykański Rejestr Badań Genetycznych raportuje około 50000 testów dostępnych do charakteryzowania środków leczniczych w aspekcie terapii spersonalizowanej, jedynie kilka z nich np. określanie wariantów HLA czy ocenianie genów kodujących CYP2D6 lub CYP2C9 faktycznie są wykorzystywane klinicznie. Na ile przedstawione analizy mają szansę na zwiększenie wykorzystania już zdeponowanych w rejestrach i bazach danych informacji?

Podsumowując stronę redakcyjną i lingwistyczną pracy, całość napisana jest poprawnie, nieliczne błędy stylistyczne czy edytorskie nie wpływają na ogólny odbiór i wysoką wartość dysertacji. Zarówno publikacje stanowiące podstawę rozprawy, jak i tekst stanowiący streszczenie tematu i wprowadzenie do samych artykułów układają się w spójną, logiczną całość. Bibliografia dobrana jest w sposób poprawny, wszystkie pozycje literaturowe znajdują swoje odniesienia w tekście.

## **Wnioski**

Przedstawiona dysertacja bezsprzecznie porusza ważne, aktualne i niezmiennie rozwijające się aspekty związane z terapią spersonalizowaną. Kandydat bardzo trafnie zidentyfikował ograniczenia związane z badaniami farmakogenomicznymi, zarówno od strony technicznej jak i implikacjami praktycznego wdrażania uzyskiwanych danych do praktyki klinicznej. Mimo, że dwie z trzech prac w cyklu to artykuły przeglądowe, a tylko jedna to badania oryginalne uważam, że wysoka jakość badań własnych i umiejętnej dyskusja

otrzymanych wyników jest efektem dogłębnej analizy tematu podczas pisania artykułów przeglądowych. W mojej ocenie, szerokie podejście do tematu tj. próba zaadresowania kilku trudności analiz farmakogenomicznych w jednej pracy jest dowodem dojrzałości naukowej Doktoranta. Świadczy o tym dodatkowo łączny dorobek Pana Alireza Tafazoli tj. 23 publikacje o sumarycznym wskaźniku IF 72.31 i MEiN 1790.

Podsumowując, na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że znacząco przyczynia się ona do rozwoju Dyscypliny Nauk Medycznych oraz w pełni spełnia wymogi merytoryczne i formalne stawiane pracy doktorskiej. Zwracam się do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pana Alireza Tafazoli do dalszych etapów procedury ubiegania się o stopień doktora. Jednocześnie ze względu na wysoki poziom pracy, wnioskuję o jej wyróżnienie.

