



**dr hab. Anna Gromotowicz-Popławska**  
Zakład Biofarmacji i Radiofarmacji  
Wydział Farmaceutyczny  
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. Mickiewicza 2C, 15-222 Białystok  
tel. + 48 85 748 58 04  
anna.gromotowicz@umb.edu.pl

Białystok, 30.11.2023 r.

## RECENZJA

**rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki farmaceutyczne**

**mgr Pawła Waśniowskiego**

**pt. „Radiosynteza wybranych znaczników do diagnostyki onkologicznej  
z wykorzystaniem techniki PET i dostosowanie ich produkcji do różnych  
typów dyspenserów”**

**wykonanej pod kierunkiem promotora dr hab. Bogumiły Kupcewicz, prof. UMK  
i promotora pomocniczego, dr Jolanty Czuczejko  
w Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy  
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Pozytonowa tomografia emisyjna (PET) jest jedną z najbardziej dynamicznie rozwijających się metod obrazowych w medycynie. Liczba ośrodków w Polsce wykonujących badanie PET i liczba samych badań stale rośnie. Badanie PET jest powszechnie wykorzystywane w diagnostyce molekularnej chorób nowotworowych, cechuje się dużą czułością i pozwala na wykrycie aktywnych zmian w całym organizmie. Badanie opiera się na zastosowaniu krótkożyjących pierwiastków promieniotwórczych emitujących pozytony, które pochodzą z rozpadu promieniotwórczego izotopu wchodzącego w skład podawanego pacjentowi radiofarmaceutyku – związku będącego kompleksem radioizotopu i cząstki aktywnej biologicznie. Obecnie większość badań PET jest wykonywanych z użyciem jako radiofarmaceutyku – [ $^{18}\text{F}$ ]fluorodeoksyglukozy ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG), ponieważ podstawowe znaczenie w diagnostyce onkologicznej odgrywa ocena procesów metabolicznych dla glukozy. Mimo, że [ $^{18}\text{F}$ ]FDG jest wychwytywana przez większość procesów złośliwych, czułość badania PET z wykorzystaniem [ $^{18}\text{F}$ ]FDG w przypadku niektórych nowotworów np. raka prostaty, guzów neuroendokrynnych, czy raka pierwotnego wątroby, jest jednak niewystarczająca. W związku z powyższym w ostatnich latach zwiększa się zainteresowanie obrazowaniem PET z użyciem nowych, alternatywnych do [ $^{18}\text{F}$ ]FDG radiofarmaceutyków. Obok [ $^{18}\text{F}$ ]FDG, stosowanych jest obecnie kilkanaście nowych radiofarmaceutyków pozwalających na ocenę metabolizmu aminokwasów, apoptozy, angiogenezy, stopnia hipoksji guza czy chorób zwyrodnieniowych mózgu. Należą do nich m.in.: [ $^{11}\text{C}$ ]cholina, [ $^{11}\text{C}$ ]metionina,

[<sup>18</sup>F]dihydroksyfenyloalanina ([<sup>18</sup>F]F-DOPA), czy [1-<sup>11</sup>C]Octan sodu. Istotną przeszkodą w upowszechnianiu badań z użyciem nowych radiofarmaceutyków jest krótki okres połowicznego rozpadu izotopu użytego do znakowania, co wymusza konieczność ich złożonej syntezy w cyklotronie, ponadto niska wydajność syntezy oraz relatywnie mniejsze zapotrzebowanie na te znaczniki, co ogranicza możliwości ich rejestracji. Dalszy rozwój diagnostyki opartej na radiofarmaceutykach zależy niewątpliwie od postępów w zakresie radiofarmacji, bowiem opiera się na optymalizacji zarówno znanych już procedur z zakresu medycyny nuklearnej, jak i wprowadzaniu nowych znaczników obrazujących różne zaburzenia procesów metabolicznych w komórkach nowotworowych. Istotną przeszkodą w stosowaniu nowych radiofarmaceutyków są ograniczenia legislacyjne. Prawo farmaceutyczne w Polsce nie zezwala na produkcję i zastosowanie niezarejestrowanych radiofarmaceutyków, przygotowywanych w zakładach medycyny nuklearnej „na własny użytek”, mimo że ich skuteczność diagnostyczna jest udowodniona. Procedura taka jest prawnie dopuszczona w wielu krajach Unii Europejskiej. Dotyczy to radiofarmaceutyków, które są znane od dawna, jednak ze względu na ich rzadkie stosowanie, brak jest zainteresowania ich rejestracją i komercyjnym stosowaniem.

Rozprawa doktorska mgr Pawła Waśniowskiego wpisuje się w aktualny temat dotyczący rozwoju technik obrazowania opartych na stosowaniu radiofarmaceutyków. Praca została wykonana pod kierunkiem Pani Profesor Bogumiły Kupcewicz, Kierownika Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego *Collegium Medicum* w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu i Pani Doktor Jolanty Czuczejko, Adiunkta w Katedrze Psychiatrii Wydziału Lekarskiego *Collegium Medicum* w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu i Koordynatora w Laboratorium Produkcji Radiofarmaceutyków w Centrum Onkologii w Bydgoszczy, zatem w zespole badaczy o dużym doświadczeniu w prowadzeniu badań i praktyce w wytwarzaniu i stosowaniu radiofarmaceutyków. Głównym problemem badawczym, który Doktorant podjął w swojej pracy, są ograniczenia w stosowaniu radiofarmaceutyków charakteryzujących się m.in. krótkim okresem połowicznego rozpadu izotopu użytego do znakowania, niską wydajnością syntezy i mniejszym zapotrzebowaniem w porównaniu do radiofarmaceutyków komercyjnych. Ograniczenia te wynikają z jednej strony, z trudności technicznych napotykanych podczas procesu wytwarzania, z drugiej zaś z przepisów prawnych niedostosowanych do wytwarzania niszowych produktów radiofarmaceutycznych. W tym kontekście mgr Paweł Waśniowski w swojej rozprawie doktorskiej zajął się optymalizacją procesu wytwarzania wybranych radiofarmaceutyków, uwzględniając regulacje prawne w zakresie wytwarzania i kontroli jakości.

Rozprawa doktorska mgr Pawła Waśniowskiego jest monografią przedstawiającą wyniki badań własnych. Recenzowana praca składa się z 12 rozdziałów. Praca obejmuje ogółem 238 stron, włączając materiał graficzny i piśmiennictwo. Zaprezentowany materiał został zilustrowany 84 rycinami i 22 tabelami. Monografia zawiera ponadto załączniki w postaci życiorysu zawodowego Doktoranta i publikacji naukowych prezentujących opisane w dysertacji badania. We wstępie, obejmującym 23 strony, Doktorant omawia metody produkcji radioizotopów do celów medycznych, biochemię wybranych radiofarmaceutyków

i fizyczne aspekty technik obrazowania wykorzystujących radiofarmaceutyki. W mojej ocenie we wstępie należałoby więcej uwagi poświęcić problemom napotykanym podczas wytwarzania radiofarmaceutyków oraz wymaganiom jakościowym produktów radiofarmaceutycznych określonych w odpowiednich aktach prawnych i co się z tym wiąże – ograniczeniom w stosowaniu radiofarmaceutyków. Przedstawienie we wstępie rozprawy problemów związanych z wytwarzaniem, rejestracją i stosowaniem radiofarmaceutyków uzasadniłoby lepiej cel podjętych przez Doktoranta badań. W rozdziale „Cele pracy” Doktorant wyraźnie zdefiniował zarówno cel ogólny, jak i cele szczegółowe, które są konieczne do realizacji celu głównego. Celem głównym recenzowanej rozprawy było zbadanie wpływu czasu potrzebnego na przygotowanie wybranych znaczników do diagnostyki onkologicznej z wykorzystaniem techniki PET, uwzględniając regulacje prawne w zakresie wytwarzania i kontroli jakości radiofarmaceutyków oraz konstrukcje urządzeń do rozlewu, na końcową wydajność, którą można przeznaczyć na dawki dla pacjenta. Z uwagi na liczbę wykonywanych doświadczeń cel główny został podzielony na cele szczegółowe:

- optymalizacja syntezy wybranych radiofarmaceutyków w celu uzyskania najwyższej wydajności i czystości radiochemicznej
- dostosowanie rozlewu serii dla wybranych radiofarmaceutyków na różnych typach dispenserów porównując czas potrzebny na ich przygotowanie
- przeprowadzenie kontroli jakości wybranych radiofarmaceutyków przy zachowaniu kryteriów akceptacji, zgodnych z wytycznymi Farmakopei Polskiej i Europejskiej, uwzględniając czas wykonania niezbędnych badań
- obliczenie końcowej wydajności i ilości badań PET możliwych do wykonania po przeprowadzeniu całego procesu wytwarzania, uwzględniając spadek aktywności oraz całkowitego czasu w trakcie przygotowania wybranych radiofarmaceutyków.

Należy podkreślić, że postawione przez Doktoranta cele są niezwykle aktualne w aspekcie praktycznego wytwarzania i stosowania radiofarmaceutyków.

W kolejnych rozdziałach Doktorant opisał materiały i metody zastosowane do produkcji, rozlewu i kontroli jakości wybranych radiofarmaceutyków: [ $^{18}\text{F}$ ]FDG, [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA, ([ $^{11}\text{C}$ ]metyl)Choliny i [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ]Octanu sodu. Doktorant opisał cyklotronową produkcję izotopów fluoru  $^{18}\text{F}$  i węgla  $^{11}\text{C}$ , automatyczną radiosyntezę: [ $^{18}\text{F}$ ]FDG na module Explora FDG<sub>4</sub>, [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA, na module RayTest SynChrom R&D, ([ $^{11}\text{C}$ ]metyl)Choliny na module ModularLab – PharmTracer i [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ]Octanu sodu na module Explora AC, a następnie rozlew serii na różnych typach dispenserów (Theodorico, Clio i Althea) oraz metody użyte do kontroli jakości radiofarmaceutyków.

Wyniki badań zostały omówione i przedyskutowane na 103 stronach. Duża ilość rycin i tabel ułatwia analizę zastosowanych metod i procedur, a w szczególności zastosowanych przez Doktoranta modyfikacji w czasie radiosyntezy. Przedstawienie w tabelach uzyskanych wyników radiosyntezy w odniesieniu do wyników uzyskanych przez innych autorów ułatwia porównanie, ocenę i dyskusję zasadności zastosowanych przez Doktoranta modyfikacji. Doktorant przeprowadził rozlew poszczególnych radiofarmaceutyków na tych samych urządzeniach. Wykazał, że czas rozlewu serii nie zależał od typu radiofarmaceutyku, ale od

automatyzacji urządzenia, doświadczenia operatora oraz typu opakowania końcowego. Doktorant poświęcił także wiele uwagi wynikom uzyskanym podczas badań kontroli jakości uzyskanych radiofarmaceutyków. Wszystkie metody kontroli jakości zostały oparte o wytyczne Farmakopei Polskiej wydanie XII oraz Farmakopei Europejskiej wydanie X. Szczególną uwagę w aspekcie kontroli jakości Doktorant poświęcił porównaniu czasu poświęconego na ten etap badań. Doktorant wyliczył także całkowity czas potrzebny na przygotowanie radiofarmaceutyków oraz spadek aktywności radiofarmaceutyków, z której obliczył ilość pacjentów, którym może zostać wykonane badanie PET, co przedstawił przejrzysto na rycinach.

Rozprawę doktorską podsumowują 4 rozbudowane wnioski, które są także po części podsumowaniem wyników, co w przypadku tej monografii oceniam pozytywnie, bowiem przekazują tym samym w sposób rzeczowy ideę zaplanowanych badań, konieczność i jednocześnie możliwość usprawnień technicznych syntezy radiofarmaceutyków, a także perspektywę poprawy regulacji prawnych w zakresie wytwarzania i rejestracji radiofarmaceutyków. Doktorant wnioskuje, że optymalizacja procesu syntezy wybranych radiofarmaceutyków w postaci np. wydłużenia czasu hydrolizy na etapie syntezy, dobór odpowiedniego utleniacza, wyeliminowanie dodatkowych rozpuszczalników czy udoskonalenie procedury czyszczenia poprawia istotnie parametry jakościowe produktu końcowego. Kolejnym istotnym czynnikiem, determinującym końcową aktywność radiofarmaceutyku, jest czas rozlewu serii oraz czasochłonne badania kontroli jakości. W końcowym wniosku Doktorant wskazuje na potrzebę wprowadzania nowszych technologii i metod syntezy oraz systemów uzupełniania dokumentacji, które przyczynią się do zwiększenia uzyskiwanej końcowej aktywności, co z kolei przełoży się na większą ilość badań PET możliwych do wykonania. Wnioski z przeprowadzonych badań wskazują ponadto, że przygotowanie radiofarmaceutyków niekomercyjnych, na małą skalę w jednostkach szpitalnych na zasadach produkcji „na własny użytek”, mających wysoki potencjał diagnostyczny, jest aktualną i pilną potrzebą medycyny spersonalizowanej.

Monografię kończą poprawnie przygotowane streszczenia w języku polskim i angielskim, w których Doktorant w sposób klarowny przedstawił założenia, metodykę oraz uzyskane wyniki oraz lista 121 pozycji piśmiennictwa. Uzupełnienie monografii stanowią 3 publikacje prezentujące wyniki opisywanych w dysertacji badań, o łącznym IF = 5,0. W dwóch pierwszych publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, zaś w trzeciej publikacji – drugim.

Pod względem edytorskim praca zawiera pewne błędy np.: wykaz skrótów jest niepełny i powinien być ułożony alfabetycznie, nazwy obcojęzyczne powinny być zapisane kursywą, odnotowałam brakujące pozycje w spisie treści, błędy literowe i interpunkcyjne. Błędy te nie mają jednak w mojej ocenie wpływu na wartość merytoryczną pracy.

Wywiązując się z obowiązku recenzenta, chciałabym przedstawić kilka zagadnień do dyskusji podczas publicznej obrony:

- 1) W jaki sposób acetylowe zanieczyszczenia w końcowym produkcie syntezy [ $^{18}\text{F}$ ]FDG mogą wpłynąć na mechanizm kumulacji FDG w komórkach nowotworowych? Czy

- mogą istotnie wpłynąć na wynik obrazowania PET oraz bezpieczeństwo i zdrowie pacjenta?
- 2) Wskazuje Pan w swojej rozprawie na zalety zastosowania dyspenseru Althea do rozlewu serii wybranych radiofarmaceutyków m.in. krótszy czas przygotowania rozcieńczenia i rozlewu, co przekłada się na obniżenie strat aktywności o ponad 20% i możliwość przeznaczenia jej na dodatkowe dawki dla pacjenta. Jakie są wady dyspenseru Althea i ograniczenia w zastosowaniu w rutynowej praktyce wytwarzania radiofarmaceutyków?
  - 3) Wskazuje Pan, że produkcja radiofarmaceutyków niszowych w trybie „na własny użytek” w jednostkach szpitalnych jest aktualną potrzebą medycyny spersonalizowanej. Czy w Pana opinii jest to realne, biorąc pod uwagę wyposażenie i przygotowanie jednostek oraz ograniczenia prawne? Czy są podejmowane prace legislacyjne w tym temacie?

Pragnę zauważyć, że moje komentarze i zapytania nie obniżają wartości merytorycznej ocenianej rozprawy.

Podsumowując, rozprawa doktorska mgr Pawła Waśniowskiego stanowi oryginalne opracowanie naukowe, zaś przedstawione problemy badawcze są istotne i aktualne. Na podkreślenie zasługuje fakt logicznego zaplanowania szeregu doświadczeń, a także wszechstronna analiza uzyskanych wyników na poszczególnych etapach doświadczeń. W mojej ocenie cele założone na wstępie pracy zostały osiągnięte. Przyjęto poprawną metodykę i przeprowadzono właściwą analizę wyników. Doktorant wykazał się znajomością różnych technik i metod badawczych. Doceniam ogrom pracy włożonej przez Doktoranta w optymalizację czasochłonnych syntez radiofarmaceutyków. Przeprowadzone badania i opracowane rozwiązania mogą przyczynić się do rozwoju metod otrzymywania radiofarmaceutyków o wyższej czystości radiochemicznej i wydajności, co z kolei ma wpływ na poprawę bezpieczeństwa stosowania u pacjentów, a także na dostępność metod diagnostyki obrazowej opartej na radiofarmaceutykach także niekomercyjnych.

**Biorąc pod uwagę powyższe, przedłożoną rozprawę doktorską oceniam pozytywnie. Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Pawła Waśniowskiego spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2022 r., poz. 574), stawiane rozprawom doktorskim. W związku z powyższym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Medycznego Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Pawła Waśniowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

**KIEROWNIK**  
Zakładu Biofarmacji i Radiofarmacji  
*Ania Gromotowicz-Popławska*  
dr hab. n. farm. Ania Gromotowicz-Popławska

**UNIwersytet Medyczny**  
w Białymstoku  
**ZAKŁAD BIOFARMACJI**  
**I RADIOFARMACJI**  
15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2C  
tel. 85 748 56 07