



UNIwersYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

dr hab. Dorota Kamińska, prof. UMW
Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej
Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław

Ocena rozprawy doktorskiej mgr. farm. Arkadiusza Kocura
pt. : „Terapeutyczne monitorowanie stężeniem takrolimusu i kwasu mykofenolowego z
zastosowanie mikropróbkiowania objętościowo-absorpcyjnego połączonego z techniką LC-
MS/MS u pacjentów pediatrycznych po przeszczepieniu nerki”.

Promotor: prof. dr hab. n. farm. Tomasz Pawiński
Promotor pomocniczy: dr n. farm. Dorota Marszałek
Zakład Chemii Leków
Wydział Farmaceutyczny
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Transplantacja nerki uważana jest za metodę optymalną leczenia nerkozastępczego z uwagi na to, że jako jedyna zapewnia powrót homeostazy oraz przynajmniej częściowe odwrócenie czynnościowych zaburzeń metabolicznych związanych z mocznicą. Przeżycie biorców przeszczepu nerki jest znacząco wyższe w porównaniu do porównywalnej grupy pacjentów pozostających w programie dializ. Na wyniki przeszczepienia, oprócz jakości narządu, znaczący wpływ mają różnice antygenowe między dawcą a biorcą i wywołana przez



UNIwersytet Medyczny IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

nie odpowiedź immunologiczna oraz zastosowane leczenie immunosupresyjne. Z uwagi na dużą zmienność wewnątrz- i międzyosobniczą odpowiedzi na leki immunosupresyjne poszerzenie dostępnej wiedzy na temat ich terapeutycznego monitorowania poprzez opracowanie zaawansowanych metod diagnostycznych może przyczynić się do znaczącego obniżenia częstości występowania epizodów ostrego odrzucania u biorców przeszczepów oraz poprawy jakości życia.

Z uwagi na trudności w uzyskaniu odpowiedniej ilości krwi od biorców pediatrycznych wprowadzane są techniki mikropóbkowania, w tym mikropóbkowania objętościowo-absorpcyjnego (VAMS), w których wykorzystywane jest pobieranie niewielkiej ilości krwi włośniczkowej.

Z powyższych powodów mogę stwierdzić, że podjęty przez Doktoranta problem badawczy dotyczący optymalizacji strategii pobrania materiału metodą VAMS w celu oznaczania stężeń takrolimusu i kwasu mykofenolowego w oparciu o wysokosprawną chromatografię ciekłą sprzężoną z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) u pediatrycznych biorców przeszczepu nerki jest trafny, zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i praktycznego. Przedstawiona rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Tytuł pracy uważam za właściwy.

Nadesłana do oceny praca doktorska składa się z 3 artykułów (jednej pracy przeglądowej i dwóch prac doświadczalnych) opublikowanych w renomowanych czasopismach międzynarodowych, o łącznym IF – 15,40 i punktacji MEiN równej 240.

Poniżej – dla porządku formalnego – przedstawiam prace, które zostały ujęte w rozprawie doktorskiej.

1. Kocur A, Pawiński T. Volumetric Absorptive Microsampling in Therapeutic Drug Monitoring of Immunosuppressive Drugs-From Sampling and Analytical Issues to Clinical Application. *Int J Mol Sci.* 2022 Dec 30;24(1):681.



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

2. Kocur A, Marszałek D, Rubik J, Czajkowska A, Pawiński T. Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus Based on Volumetric Absorptive Microsampling Technique (VAMS) in Renal Transplant Pediatric Recipients-LC-MS/MS Method Development, Hematocrit Effect Evaluation, and Clinical Application. *Pharmaceutics*. 2023 Jan 16;15(1):299. doi: 10.3390/pharmaceutics15010299. PMID: 36678927; PMCID: PMC9864564.

3. Kocur A, Rubik J, Czarnowski P, Czajkowska A, Marszałek D, Sierakowski M, Górka M, Pawiński T. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid (MPA) using volumetric absorptive microsampling (VAMS) in pediatric renal transplant recipients: ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analytical method development, cross-validation, and clinical application. *Pharmacol Rep*. 2023 Aug;75(4):1026-1042.

Wraz z kopiami prac przekazano sześćdziesięcioczeronastopięcioronnicowe omówienie prac, wprowadzające w problematykę realizowanych badań. Doktorant przedstawiła w nim cel rozprawy, metodykę realizowanych badań oraz podsumował uzyskane i opublikowane w poszczególnych pracach wyniki, z ukazaniem kluczowych wniosków. Opracowanie zostało starannie przygotowane pod względem edytorskim. Na szczególne uznanie zasługują bardzo drobiazgowo wykonane i atrakcyjne pod względem wizualnym ryciny. Z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na nieliczne błędy stylistyczne (np. w ostatnim akapicie na str. 31: „stężenie minimalne jest rutynowym parametrem stosowanym w terapeutycznym monitorowaniu TAC w klinikach”. Nieliczne błędy edytorskie nie obniżają wartości pracy. Zastosowane piśmiennictwo (43 pozycje) jest aktualne i dobrze dobrane.

Streszczenia w języku polskim i angielskim są umieszczone na początku opracowania.



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Doktorant opisał poszczególne etapy realizacji celów odpowiadające kolejnym publikacjom.

W pierwszej pracy przeglądowej Doktorant szczegółowo przeanalizował stan wiedzy na temat monitorowania leków immunosupresyjnych z uwzględnieniem metod doświadczalnych z użyciem techniki VAMS oraz najważniejszych trudności związanych z techniką mikropróbkiowania.

W drugiej pracy Doktorant przedstawił protokół walidacyjny metody oznaczania TAC metodą LC-MS/MS w krwi żyłnej i próbkach pobranych techniką VAMS oraz wyniki zastosowania tego protokołu do oznaczenia stężenia C_0 w próbkach uzyskanych od 50 pediatrycznych biorców nerki. Za bardzo istotne uważam wykazanie braku korelacji pomiędzy różnicami w poziomach stężeń oznaczonych w próbce pełnej krwi VAMS, a poziomem hematokrytu w osobniczym przypadku dla pacjentów pediatrycznych po przeszczepieniu nerki oraz wyznaczenie wyznaczony algorytmu umożliwiającego przeliczenie stężenia TAC w VAMS, na estymowane stężenie tego leku możliwe do uzyskania standardowo stosowaną metodą CMIA.

W pracy trzeciej opisano protokół walidacyjny metody oznaczania stężeń MPA metodą LC-MS/MS w krwi żyłnej, osoczu i próbkach pobranych techniką VAMS. Nie potwierdzono równoważności metod oznaczania stężenia MPA w osoczu i próbkach pobranych metodą VAMS. Podobnie jak w przypadku TAC wykazano brak wpływu efektu hematokrytu na odzysk analitu z próbek pobranych metodą VAMS poprzez porównanie uzyskanych poziomów stężeń z metodą referencyjną LC-MS/MS.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorant sformułował 10 wniosków, które w pełni odpowiadają celom postawionym na początku pracy i są zgodne z otrzymanymi wynikami.



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Brzmienie większości wniosków wymaga przeredagowania, ponieważ przedstawiają w sposób syntetyczny uzyskane przez Doktoranta wyniki. Wnioski powinny prezentować najważniejsze, uogólnione stwierdzenia wynikające z pracy a nie być powtórą prezentacją wyników. Dodatkowo wniosek nr 9 nie przedstawia konkluzji wynikających z pracy a jest stwierdzeniem, że prace badawcze są pierwszym tego typu opracowaniem w populacji pediatrycznych biorców przeszczepu nerki.

Nie mam uwag pod względem merytorycznym. Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca doktorska świadczy o szerokiej wiedzy Autora w zakresie przedstawionej tematyki, zawiera oryginalną i nowatorską koncepcję naukowo-badawczą.

Przedstawiony cykl artykułów jest rzetelnym opracowaniem właściwie opracowanego materiału klinicznego z zastosowaniem adekwatnych narzędzi badawczych. Opublikowanie wyników badań w literaturze światowej daje możliwości korzystania z niej przez liczne grono naukowców, nie tylko z Polski. Sumaryczny współczynnik wpływu tych prac przekracza 15, co z nadatkiem spełnia kryteria stawiane pracom doktorskim.

Uważam, że rozprawa doktorska mgr. farm. Arkadiusza Kocura jest udaną próbą włączenia się w nurt badań dotyczących leczenia immunosupresyjnego u pediatrycznych biorców alloprzeszczepu nerki. Autor wykazał się wymaganą umiejętnością samodzielnego formułowania i rozwiązywania problemów naukowych, samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz dobrym przygotowaniem merytorycznym i szeroką wiedzą teoretyczną w prezentowanej dyscyplinie. Praca jest rzetelnym opracowaniem właściwie opracowanego materiału badawczego z zastosowaniem adekwatnych narzędzi badawczych.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o



UNIwersYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn. zm.).

Mam zaszczyt złożyć Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie mgr. farm. Arkadiusza Kocura do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Z uwagi na nowatorski charakter pracy oraz opublikowanie wyników w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Wrocław 02.11.2023

Donato Kemiśke