

## ОТЗЫВ

официального оппонента Евгения Валентиновича Полякова на диссертационную работу Натальи Валерьевны Варламовой «Разработка методов получения меченых технецием-99М нанокolloидных препаратов для диагностики сторожевых лимфатических узлов», представленную на соискание учёной степени доктора технических наук специальности 05.11.17 – приборы, системы и изделия медицинского назначения

**Актуальность.** В связи с высокой заболеваемостью в Российской Федерации онкологическими заболеваниями особую актуальность приобретает освоение международного научного опыта при разработке отечественных ядерно-медицинских технологий ранней (менее года) диагностики онкологических заболеваний. Практическое решение этой проблемы позволит, как показывает мировой опыт, излечивать более 80% диагностируемых на ранней стадии пациентов. Сложность её решения вызвана тем, что РФ заметно отстаёт в



области технологии радионуклидной диагностики от развитых стран мира, несмотря на наличие всех необходимых для её решения научно-технических составляющих: наличия фундаментального задела в области радиохимии фармацевтических препаратов, отечественных технологических разработок и мощностей по производству короткоживущих радионуклидов, включая технеций-99м, специалистов радиохимического и смежного профиля. В качестве

**актуального направления исследований в области приборов, систем и изделий медицинского назначения** диссертанткой выбрано направление развития концепции «сторожевого» лимфатического узла (Sentinel Lymph Node, SLN, см. Рисунок). Интерес к такому подходу постоянно растёт, позволяя с использованием изотопа  $^{99m}\text{Tc}$ , выявлять онкологические признаки у больного на ранних стадиях (см. например P. Bourgeois, J. M. Nogaret, I. Veys, D. Hertens, D. Noterman, J. Dagnelie, C. Vanhaunderde, M. Barette and D. Larsimont. Sentinel lymph node imaging and research after bone scintigraphy in breast cancer patients// The Breast (2003)12, 194–202). Особенностью техники

выявления сторожевого лимфоузла является применение специфического радионуклида в состоянии адсорбционного коллоида (псевдоколлоида по классификации И.Е. Старика). Фазами-носителями для  $^{99m}\text{Tc}$  традиционно являются коллоиды фторида олова, сульфидов сурьмы и рения, технология наработки которых имеет ряд существенных недостатков. Наталья Валерьевна Варламова сформулировала **целью диссертации** разработку технологии получения меченного  $^{99m}\text{Tc}$  радиофармацевтического нанокolloидного препарата и методов контроля его качества, обеспечивающих безопасность и высокую эффективность их использования для диагностики сторожевых лимфатических узлов.

**Структура и основное содержание работы.** Содержание диссертационной работы изложено на 227 страницах печатного текста. Структура диссертации включает введение, обзор литературы, описания материалов, объектов и методов исследования, две главы с результатами экспериментальных исследований, заключения, списка сокращений, списка процитированной литературы, четырёх приложений. В диссертации 28 таблиц, 33 рисунка. Список литературы включает 258 библиографических источников, охватывающих период времени 1968-2017гг.

**Во введении** обосновывается актуальности диссертационной работы, сформулированы цель и задачи исследований, кратко изложены её научная новизна и практическая значимость.

**Первая глава** представляет обзор литературных данных, посвящённый современному состоянию проблемы диагностики «сторожевых» лимфатических узлов (СЛУ) у онкологических больных. Констатируется, что оптимальным для целей диагностики является применение радиофармацевтических препаратов (РФП) короткоживущего радионуклида  $^{99m}\text{Tc}$ , физико-химическое состояние которого в лимфе соответствует существованию коллоида с размерами частиц в диапазоне 10-100 нм. Отмечена объективная сложность существующей радиохимической техники приготовления коллоидных растворов РФП  $^{99m}\text{Tc}$ . Для решения этой задачи рассматриваются возможности применения ионных комплексов  $^{99m}\text{Tc}$  на основе производных ди-этилен-триамин-пентауксусной кислоты (ДТПА) и магнитоуправляемых адсорбционных коллоидов  $^{99m}\text{Tc} - \text{Fe}@\text{C}$ . Новым в данной проблеме является предложенный автором диссертации поиск условий одностадийного восстановления  $^{99m}\text{Tc}(\text{VII})$  и последующей адсорбции  $^{99m}\text{Tc}(\text{III}, \text{IV})$  на активированной поверхности коллоидного гамма- $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Рассматривается возможность экспериментального исследования эффективности использования раствора адсорбционного коллоида  $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$  для диагностики сторожевых лимфатических узлов.

**Во второй главе** дано описание всех основных использованных в исследовании экспериментальных методик. Они включают методы

приготовления растворов и реагентов, продуктов, методы определения размеров меченных коллоидных частиц мембранной фильтрацией и с помощью анализа динамического светорассеяния (спектроскопия кросс-корреляции фотонов). Охарактеризованы методики радиометрического измерения активности  $^{99m}\text{Tc}$  в пробах исследуемых радиофармпрепаратов, метод анализа радиохроматограмм. Рассмотрены методики определения химических примесей в компонентах РФП. Описаны методики проведения микробиологических исследований и определения функциональной пригодности РФП для сцинтиграфического и интраоперационного выявления «сторожевых» лимфоузлов. Описаны методы статистической обработки результатов экспериментов, включая оценку выборочных средних по критерию Стьюдента.

**Третья глава** посвящена описанию экспериментальных результатов получения меченных  $^{99m}\text{Tc}$  соединений в форме *трёх типов* коллоидных растворов. Первый из них - комплекс восстановленного катиона технеция с диэтилен-триамин-пентауксусной кислотой (ДТПА), гидрофобизированный алифатическими радикалами для придания всему комплексу способности к коллоидообразованию в водном растворе при нейтральных рН. Найдено, что для подавления отрицательного влияния образующегося грубодисперсного оксигидрата Sn (IV) и увеличения скорости транспорта требуется введение в коллоидный раствор  $^{99m}\text{Tc}$  – ДТПА(гидрофобизированный) коллоидного раствора желатина. Вторая форма - наночастицы кластеров железа, покрытых углеродной оболочкой (Fe@C), поверхность которой модифицирована арилдиазоний тозилатами с хелатсодержащей группой. Для сорбционного осаждения на них катионов  $^{99m}\text{Tc}$  диссертантка использовала концентрированный раствор соли Sn (II) и дополнительный комплексообразователь – аскорбиновую кислоту. Найденный состав и методика приготовления РФП позволили получить препарат на основе частиц Fe@C(АДТ), пригодный для проведения гамма-сцинтиграфических исследований. Третья форма адсорбционного коллоида, перспективного для создания РФП представляла собой продукт адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  на поверхности наноразмерных частиц порошка гамма- $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Для повышения адсорбционных свойств оксида алюминия проводили «активацию» его поверхности кислотой и восстановление  $^{99m}\text{Tc(VII)}$  предположительно до  $^{99m}\text{Tc(IV)}$  раствором хлорида Sn(II) в присутствии раствора желатина и стабилизатора – аскорбиновой кислоты. Это позволило достичь средних размеров частиц адсорбционного коллоида  $^{99m}\text{Tc(IV)}\text{-Al}_2\text{O}_3$  около 84 нм, что необходимо для фиксации адсорбционного коллоида в сторожевом лимфоузле. На основе процедуры приготовления третьей формы РФП была далее разработана воспроизводимая методика синтеза лиофилизированного реагента для получения коллоида  $^{99m}\text{Tc(IV)}\text{-Al}_2\text{O}_3$  стандартного набора для генератора  $^{99m}\text{Tc}$  и последующего приготовления на его основе радиофармпрепарата «Нанокolloид». Опытами на экспериментальных животных диссертантка

показала эффективность предложенного препарата в сравнении с препаратом «<sup>99m</sup>Tc-Nanocis» (Франция).

**Четвёртая глава** диссертации посвящена результатам разработки методов стандартизации, нормативной документации на производство препарата «Нанокolloид, <sup>99m</sup>Tc-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>». Методы включали набор методик качественного и количественного определения всех химических компонентов РФП методами эмиссионного спектрального анализа, атомной абсорбции, спектрофотометрии и инверсионной вольтамперометрии растворов, производных от исходного. Результатом выполненного цикла исследований стало всестороннее физико-химическое и биомедицинское обоснование состава радиофармацевтического препарата для диагностики сторожевых лимфатических узлов, осуществлена его стандартизация. Подготовлены проекты фармакопейной статьи предприятия и опытно-промышленного регламента на производство лиофилизата для приготовления диагностического препарата для подкожного, паратуморального и интратуморального введения «Нанокolloид, <sup>99m</sup>Tc-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>», (ОПР-14402245-02-14).

**Научная новизна результатов диссертационной работы** состоит в том, что диссертантка впервые сформулировала и экспериментально доказала возможность использования явления образования устойчивого адсорбционного коллоида <sup>99m</sup>Tc-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> с участием восстановленных валентных форм технеция и коллоидного раствора гамма-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Диссертантка самостоятельно получила сравнительную экспериментальную физико-химическую информацию об условиях формирования и поведении в лабораторных растворах и лимфатической системе подопытных животных адсорбционных коллоидов ионов <sup>99m</sup>Tc с лиофилизированным комплексом ДТПА, инкапсулированными в углеродную оболочку магнитными кластерами железа Fe@C(АДТ), коллоидным раствором гамма-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, позволившую ей сделать обоснованный выбор перспективной техники получения отечественного РФП на основе устойчивого адсорбционного коллоида <sup>99m</sup>Tc-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

**Практическая значимость полученных результатов** диссертационной работы Натальи Валерьевны Варламовой состоит в создании научно-обоснованной оригинальной методики и технологии приготовления комплекта лиофилизированных реагентов для получения радиофармпрепарата «Нанокolloид, <sup>99m</sup>Tc-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>» в условиях медицинских радиологических лабораторий, проекта Спецификации и Фармакопейной статьи предприятия и технологического регламента получения данного радиофармпрепарата.

**Достоверность результатов и обоснованность выводов** Полученные в работе результаты и установленные диссертанткой качественные и

количественные характеристики их достоверности основаны на сочетании современных методов коллоидной химии, радиохимии, совокупности физико-химических методов спектрального и вольт-амперометрического анализа, радиологических методов клинической диагностики, включая сцинтилляционную радиографию, общепринятых теоретических подходов в интерпретации результатов эксперимента. Отмеченное сочетание методов и подходов представляется обоснованным и достаточным для положительной оценки достоверности совокупности результатов диссертации Натальи Валерьевны Варламовой.

**Достоинствами диссертации** являются убедительное сочетание оригинальной научной идеи о возможности и преимуществах синтеза химически устойчивого адсорбционного радиоколлоида  $^{99m}\text{Tc(IV, III)-Al}_2\text{O}_3$  и практической проверке и реализации этой идеи в серии сравнительных физико-химических и медико-биологических исследований прикладного характера. Достоинством также является междисциплинарный характер диссертационного исследования, его ориентированность на практику, что привело к созданию проекта отечественной Спецификации и Фармакопейной статьи предприятия, технологического регламента получения нового эффективного радиофармацевтического препарата на основе  $^{99m}\text{Tc}$ .

**Недостатком** работы на мой взгляд является идея применения, при создании адсорбционного коллоида  $^{99m}\text{Tc}$ , восстановителя – соли Sn(II), концентрация которого (10-100 мг/л) и физико-химическая форма состояния в растворе РФП (грубодисперсная суспензия гидроксида  $\text{SnO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) создаёт сорбционную конкуренцию основному носителю (например, гамма  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) за ионы  $^{99m}\text{Tc(VII, IV, III)}$ . Кроме того, не определено отложенное биологическое действие гидроксидов Sn(II, IV) на ткани и органы диагностируемого организма. Выбор более адекватного восстановителя, вероятнее всего, не ионного характера, мог бы способствовать снижению дозы вводимого  $^{99m}\text{Tc}$  и повышению чувствительности методики в целом. Претендентами на роль «чистого» восстановителя могут быть, например, растворы сольватированного электрона, природные гумины<sup>1</sup>.

**Замечания по диссертационной работе.** В тексте диссертации попадаются повторы (напр. строки 8-5 снизу на стр.15), опечатки (вместо исходной активности препарата указана активность эталона, формула (2) стр.46 диссертации). Диссертантка, при обсуждении условий формирования адсорбционных коллоидов ионов технеция с частицами оксида алюминия использует термин «нанокolloиды», вероятно подчёркивая особый размер частиц такого коллоида. По моему мнению, использование этого термина излишне, поскольку в коллоидной химии растворов давно принята

---

<sup>1</sup> S. Kumar, N. Rawat, A.S. Kar, B.S. Tomar\*, V.K. Manchanda. Effect of humic acid on sorption of technetium by alumina.// Journal of Hazardous Materials 192 (2011) 1040–1045

классификация подобных систем: мелкодисперсные коллоиды (1-100 нм), среднедисперсные коллоиды (100-10000 нм) и грубодисперсные (более 10 мкм) системы. В диссертации, рис.4, стр.66, приведён график, названный радиохроматограммой смеси [0,11 мг ДТПА<sub>мод</sub> + 0,14 мг SnCl<sub>2</sub> + <sup>99m</sup>Tc]. Его можно считать хроматограммой в случае, если по оси абсцисс нанесено текущее расстояние от точки старта до фронта подвижной фазы (см. таблицу 8 диссертации), а по оси ординат – абсолютная или относительная активность <sup>99m</sup>Tc на данном расстоянии. На рис.4 и 8 ось абсцисс ошибочно обозначена в единицах энергии (кэВ), о подпись к оси ординат отсутствует. В тексте и таблицах диссертации фигурирует термин РХЧ, радиохимическая чистота препарата. Вместе с тем, практически единственный изотоп, название которого фигурирует в работе - <sup>99m</sup>Tc, поэтому неясен сортамент радионуклидов и способ вычисления экспериментального параметра РХЧ.

### Вопросы:

1. В диссертационной работе почти не обсуждается то, какие валентные формы технеция участвуют в реакции формирования комплекса с ДТПА, адсорбционного коллоида с гамма-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Согласно данным литературы, анионы TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> в нейтральной и щелочной среде в присутствии ионов Sn(II) (гидроксида Sn(OH)<sub>2</sub>) способны восстанавливаться до ионов Tc(IV) и Tc(III)<sup>2</sup>. Вместе с этим, в растворе с восстановленными ионами технеция появляются в значительных количествах ионы Sn(IV), которые в условиях синтеза образуют коллоидный раствор оксигидрата SnO<sub>2</sub>nH<sub>2</sub>O и далее сопровождают адсорбционный коллоид. Какова, по мнению диссертантки роль восстановленных форм технеция в формировании комплекса Tc-ДТПА и Tc-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, является ли положительным фактором присутствие в радиофармпрепарате коллоидного раствора Sn(IV)?
2. Представляет ли клинический интерес применение иных восстановителей, например, Fe(II) вместо Sn(II) для приготовления <sup>99m</sup>Tc-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> коллоида?

**Заключение.** Рецензируемая диссертационная работа Натальи Валерьевны Варламовой «Разработка методов получения меченых технецием-99М нанокolloидных препаратов для диагностики сторожевых лимфатических узлов», является законченным, завершённым исследованием, направленным на решение актуальной в фундаментальном и прикладном отношениях проблемы создания более эффективных приборов, систем и изделий для ранней диагностики злокачественных новообразований. Работа содержит существенные элементы новизны в области научно-технических основ получения меченых <sup>99m</sup>Tc коллоидных препаратов для диагностики сторожевых лимфатических узлов, вводит в научный оборот новые данные о

<sup>2</sup> Isao Ikeda, Osamu Inoue, Kunio Kurata. Chemical and biological studies on <sup>99m</sup>Tc-DMS—II: Effect of Sn(II) on the formation of various Tc-DMS complexes. //The International Journal of Applied Radiation and Isotopes, Volume 27, Issue 12, December 1976, Pages 681-688.

физико-химическом поведении гетерогенных сорбционных систем в условиях живого организма. Работа содержит важный в прикладном отношении результат создания Проекта отечественной Спецификации и Фармакопейной статьи предприятия и технологического регламента получения нового эффективного радиофармпрепарата на основе  $^{99m}\text{Tc}$ . Материалы диссертации научно обоснованы и представлены в удобной для ознакомления форме.

Считаю, что диссертационная работа удовлетворяет требованиям пп.8-12 Порядка присуждения учёных степеней в Национальном исследовательском Томском политехническом университете. Её автор Наталья Валерьевна Варламова заслуживает присуждения ей учёной степени доктора технических наук по специальности 05.11.17 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения.

Официальный оппонент,  
доктор химических наук, старший научный сотрудник,  
ФГБУН Институт химии твёрдого тела  
Уральского отделения Российской  
академии наук, Министерство науки  
и образования России, г. Екатеринбург,  
главный научный сотрудник,  
заместитель директора института  
по научной работе

Поляков Евгений Валентинович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии твёрдого тела Уральского отделения Российской академии наук  
Адрес: 620990, Екатеринбург, ГСП, ул. Первомайская, 91  
Телефон: + 7- 343 - 374-48-14  
E-mail: Polyakov@ihim.uran.ru

Даю согласие на обработку моих персональных данных федеральным государственным автономным образовательным учреждением высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет».

Поляков Е.В.

Подпись Полякова Евгения Валентиновича удостоверяю:  
Учёный секретарь ФГБУН «Институт химии твёрдого тела» УРО РАН,  
доктор химических наук, старший научный сотрудник  
Денисова Татьяна Александровна



« 6 » кабрь 2019г.