

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Варламовой Натальи Валерьевны «Разработка методов получения меченных технецием-99м нанокolloидных препаратов для диагностики сторожевых лимфатических узлов», представленную на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 05.11.17 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения.

Актуальность темы исследования

Хорошо известно, что прогноз и выбор оптимальной тактики лечения злокачественных опухолей различных локализаций во многом зависят от стадии заболевания. При некоторых опухолях преобладает лимфогенный путь метастазирования, поэтому, учитывая высокую вероятность метастатического поражения регионарных лимфатических узлов в стандарты хирургического лечения входит обязательное удаление всех лимфатических коллекторов. Для решения проблемы повышения эффективности стадирования опухолевого процесса, особенно при раке молочной железы, меланоме, раке вульвы, злокачественных опухолях головы и шеи и пр., в последние годы в клиническую практику широко внедряется методика радиоизотопной индикации сигнальных лимфатических узлов. Эта технология открывает возможность на интраоперационном этапе определить вовлеченность регионарных лимфатических узлов в опухолевый процесс, что позволяет избежать «профилактической» расширенной лимфодиссекции и скорректировать объем хирургического вмешательства.

В зарубежных клиниках для выполнения сцинтиграфии сигнальных лимфатических узлов успешно используют меченные изотопом ^{99m}Tc коллоидные препараты на основе фитина (солей инозитгексафосфорной кислоты) и сульфида рения, образующих устойчивые гидрозоли. Однако технологии их получения достаточно сложные и дорогостоящие.

На протяжении последних 10 лет в Российской Федерации отсутствовали радиофармацевтические препараты (РФП) для идентификации сигнальных лимфатических узлов. Серийно выпускаемый препарат ^{99m}Tc -Технефит (ООО «Диамед», г. Москва) - коллоидный раствор на основе фитина, зарегистрированный для проведения сцинтиграфии печени и селезенки, в некоторых клиниках страны применяют “off label” для идентификации сигнальных лимфатических узлов. Недостатком этого РФП является разнокалиберность частиц с преобладанием размеров свыше 100 нм, что приводит к максимальной аккумуляции РФП в месте инъекции и получению сцинтиграфических изображений лимфоузлов неоптимального качества. Поэтому актуальность диссертационной работы Варламовой Н.В., посвященной разработке технологии получения

нового отечественного радиофармацевтического нанокolloидного препарата, меченного ^{99m}Tc для радионуклидной идентификации сигнальных лимфатических узлов, не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Сформулированные в диссертации Варламовой Н.В. задачи отвечают поставленной цели. Для решения задач был проведен большой объем лабораторных и экспериментальных исследований. Тщательно охарактеризована теоретическая и методологическая основа диссертационной работы. Все полученные результаты подробно отражены в тексте диссертации, представлены в виде таблиц, схем и сцинтиграфических изображений. Цель и задачи, намеченные в начале работы, автором успешно выполнены. Выводы основаны на непосредственных результатах проведенных исследований и подтверждены репрезентативным материалом. Основные положения работы имеют научное и практическое значение. Личный вклад Варламовой Н.В. реализацию диссертационного исследования не вызывает сомнений.

Научная новизна диссертационной работы заключается в поиске и разработке новых методов синтеза нанокolloидных радиофармпрепаратов, изучении их свойств.

Автором получены оригинальные сведения о минимальном количестве (0,0175 мг/мл) восстанавливающего агента - олова (II) для достижения радиохимической чистоты РФП более 94% и установлена экспериментальная зависимость изменения содержания в препаратах примеси $^{99m}\text{Tc(VII)}$ от концентрации восстановителя.

Впервые в мировой практике доказана возможность получения устойчивых нанокolloидных соединений простым способом – путем проведения адсорбции восстановленного ^{99m}Tc на гамма-оксиде алюминия.

Впервые в мировой практике разработана технология получения нового отечественного РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ » на основе оксида алюминия в виде стандартного набора к генератору технеция. На экспериментальных животных доказана его функциональная пригодность. Разработаны методики контроля качества РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ », определен срок годности РФП и срок хранения реагента.

По теме диссертационной работы получено 4 патента на изобретение что дополнительно подтверждает научную новизну диссертационной работы.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

В диссертации заложены методические основы получения меченных технецием- 99m нанокolloидных препаратов для диагностики сторожевых лимфатических узлов.

Продemonстрирована функциональная пригодность РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » в идентификации сторожевого лимфатического узла первого порядка. На основании результатов диссертационного исследования созданы спецификация, проект Фармакопейной статьи предприятия и технологический регламент получения нового отечественного РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ », которые необходимы для формирования пакета документов для получения разрешения на проведения клинических испытаний и последующей регистрации лиофилизата. Результаты работы используются в образовательном процессе по направлению 14.04.02 в разделе «Радиохимия. Применение радионуклидов и радиофармпрепаратов в диагностике и терапии»

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа построена по классическому плану и состоит из введения, четырех глав, заключения, содержащего выводы, списка литературных источников и приложений. Текст диссертации изложен на 227 страницах, содержит 33 рисунка, 28 таблиц и 4 приложения. Список цитируемой литературы включает 258 библиографических источника, из которых 168 на иностранных языках.

Во введении обоснована актуальность и степень разработанности темы диссертации, из которых логически вытекают цель и задачи исследования, представлены основные положения, выносимые на защиту, определены научная новизна, практическая значимость работы, методология исследования и личный вклад автора.

Обзор литературы по теме диссертационного исследования изложен в первой главе, достаточно полный и логично построен. Автор освещает современное состояние инструментальной, в том числе радионуклидной, диагностики сигнальных лимфатических узлов. Также в данной главе представлена подробная информация о существующих в настоящее время радиофармацевтических препаратах (РФП) для идентификации сигнальных лимфатических узлов - меченых нанокolloидах, синтез которых осуществляется по сложным трудоемким технологиям. Глубокий анализ современной литературы позволил автору сделать вывод, что в настоящее время наиболее оптимальными РФП для выявления «сторожевых» лимфатических узлов признаны меченные ^{99m}Tc нанокolloидные препараты различного состава. В конце обзора литературы автор делает вывод об общем недостатке всех известных лимфотропных РФП, а именно об их невысоком уровне их аккумуляции в сигнальных лимфатических узлах (менее 2% от введенной активности) и перераспределении в лимфатические узлы 2 и 3 порядков, что снижает специфичность исследования. Обзор позволяет составить целостное представление о решаемой проблеме.

Во второй главе представлены характеристики используемого оборудования, материалов и реактивов. Представлены методики приготовления растворов и реагентов для получения меченных технецием-99м нанокolloидов. Освещена методология проведения радиометрических измерений, включая определение объемной активности синтезируемых продуктов и хроматографический анализ. Для определения степени адсорбции ^{99m}Tc на оксидах алюминия после их различной кислотной обработки использован метод радиометрии. С целью оценки размеров меченных технецием-99м коллоидных частиц в автор использует два основных метода: спектроскопию кросс-корреляции фотонов (PCCS) на анализаторе размеров частиц Nanophox фирмы Sympatec GmbH и методику, основанную на измерении активности суспензий до и после их фильтрации последовательно через фильтры с размерами пор: 220, 100 и 50 нм. Достаточное внимание в данном разделе уделено методам бактериологического контроля получаемых РФП: определению концентрации бактериальных эндотоксинов в РФП с помощью лизата амебоцитов мечехвоста «*Limulus polyphemus*» (ЛАЛ-реагента) и испытанию на стерильность по ОФС 1.2.4.0003.15. Приводится описание исследований по оценке функциональной пригодности нового РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ » для интраоперационного выявления «сторожевых» лимфатических узлов. В заключении второй главы дается полная характеристика используемых методов статистической обработки результатов диссертационного исследования.

Третья и четвертая главы диссертации посвящены анализу результатов собственных исследований. Основные данные, полученные в ходе экспериментальной работы, представлены в третьей главе, которая посвящена разработке методов получения меченных технецием-99м нанокolloидов разного состава. Автором рассмотрены различные подходы к формированию меченных технецием-99м частиц на основе неорганической и органической матриц. В результате проведенных исследований разработаны методы получения трех видов нанокolloидных препаратов. Первый из них создан на основе диэтилентриаминпентауксусной кислоты, модифицированной алифатическими фрагментами (ДТПА)_{мод}, формирующими стабильные в водной среде коллоидные системы с определенными размерами частиц. Второй – на основе наноразмерных частиц железа Fe@C, покрытых углеродной оболочкой, с присоединенными к ней фрагментами бензилдиметилен-аминоуксусной кислоты. Для получения третьего вида нанокolloида в работе выбран наиболее простой способ – проведение адсорбции восстановленного технеция-99м на нанопорошке гамма-оксида алюминия.

В результате проведенных экспериментов автором разработаны методы получения трех нанокolloидных препаратов и подобран количественный состав реагентов для

наработки опытных партий нанокolloидных препаратов на основе меченных технецием- ^{99m}Tc ДТПА_{мод} и Fe@C(АДТ), а также произведена оценка их функциональной пригодности для проведения лимфа-сцинтиграфических исследований. Впервые в мировой практике реализовано получение нанокolloидного препарата на основе оксида Al_2O_3 : разработана методика приготовления стандартного набора к генератору технеция- ^{99m}Tc в виде лиофилизата для получения РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ ». Определен срок годности лиофилизированного реагента, который составил 1 год. На экспериментальных животных доказана функциональная пригодность препарата для проведения диагностических исследований сигнальных лимфатических узлов, при этом установлено, что уровень аккумуляция препарата в лимфоузле составляет 8,4-12,6% от введенной дозы, что существенно превосходит показатели зарубежных аналогов. При этом отсутствует перераспределение в лимфатические узлы 2 и 3 порядков, снижающее специфичность исследования.

Четвертая глава посвящена разработке методов стандартизации и нормативной документации на производство РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ ». Автор приводит методики качественного и количественного определения основных компонентов препарата и срока хранения лиофилизированного реагента для его получения. Большое внимание уделено разработке нормативной документации на РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ »: проектам фармакопейной статьи и опытно-промышленного регламента на производство нового лекарственного средства.

В главе «Заключение» представлены выводы диссертации, которые вытекают из поставленных задач и характеризуются убедительностью и логичностью.

Автореферат отражает наиболее важные положения диссертации, дает представление о проделанной работе, содержит в кратком виде всю необходимую информацию, характеризующую полученные в процессе исследования результаты, основные положения и выводы диссертации.

Основные результаты по материалам диссертации опубликованы в 27 статьях в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и в 32 тезисах докладов в материалах всероссийских и международных научных конференций. Опубликованные работы отражают основное содержание диссертационной работы.

Полученные результаты диссертационного исследования Варламовой Н.В. соответствуют специальности 05.11.17 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения.

В целом, диссертация Варламовой Н.В. заслуживает положительной оценки.

В ходе знакомства с диссертационной работой возникли следующие замечания:

1. В главе литературный обзор с излишней подробностью изложена методология лимфосцинтиграфии сигнальных лимфатических узлов, что в итоге привело к появлению некорректных, с точки зрения медицины, терминов, например, «прыгающие» метастазы или к ошибочным утверждениям, например, на странице 24 автор сообщает, что при плоскоклеточном раке головы и шеи «такие виды исследования, как УЗИ, КТ, ПЭТ не позволяют достоверно оценивать состояние регионарных лимфатических узлов», не уточняя, что это утверждение справедливо лишь для микрометастазов и пр.
2. Отмечена небрежность в описании методики оценки функциональной пригодности «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ », а именно, в главе «Материалы и методы исследований» автор сообщает, что РФП вводили подкожно между первым и вторым пальцами задней лапы экспериментального животного с последующей радиометрией подмышечного лимфатического узла, который, как известно, не относится к лимфатическому коллектору задней лапы. В тоже время, в подглаве 3.4 «Разработка методики изготовления лиофилизированного набора реагентов для получения РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ »» проиллюстрирован процесс подкожного введения РФП в переднюю лапу и радиометрии соответствующей подмышечной области.
3. В тексте работы встречаются опечатки.

Замечания не носят принципиального характера и не снижают научно-практическую ценность диссертационного исследования.

Также появился ряд вопросов, носящих дискуссионный характер:

1. На странице 97 представлены сцинтиграммы распределения «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » в организме экспериментального животного, при этом гипераккумуляция РФП отмечена не только в месте инъекции и лимфатическом узле, но и в мочевом пузыре. Каков механизм накопления РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » в мочевом пузыре?
2. Получено ли разрешение на клинические испытания лиофилизата «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ »?

Заключение

Диссертация Варламовой Натальи Валерьевны «Разработка методов получения меченных технецием-99м нанокolloидных препаратов для диагностики сторожевых лимфатических узлов», представленная на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 05.11.17 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена крупная научная проблема – разработка технологии получения меченного технецием-99м радиофармацевтического нанокolloидного препарата и методов контроля его качества,

обеспечивающих безопасность и высокую эффективность использования для диагностики сторожевых лимфатических узлов, имеющей существенное значение для современной медицины. По актуальности решаемой проблемы, новизне полученных результатов и их доказательности, объему выполненных исследований, научной и практической ценности выводов и практических рекомендаций работа Варламовой Н.В. полностью отвечает требованиям пп. 8 - 12 Порядка присуждения ученых степеней в Национальном исследовательском Томском политехническом университете, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора технических наук по специальности 05.11.17 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения.

Официальный оппонент:

профессор РАН, доктор медицинских наук,
ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр
имени В. А. Алмазова»
главный научный сотрудник
НИО ядерной медицины и тераностики
института онкологии и гематологии,
заведующая кафедрой ядерной медицины
и радиационных технологий

Рыжкова Дарья Викторовна

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова»
НИО ядерной медицины и тераностики института онкологии и гематологии

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

Телефон: +7 (812) 702-51-94

E-mail: d_ryjkova@mail.ru

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

Рыжкова Д.В.

Подпись Рыжковой Дарьи Викторовны ЗАВЕРЯЮ.

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»
Минздрава России,
д.м.н., профессор А.О. Нестовин

«16» ноября 2019 г.

