

Prof. dr hab. inż. Renata Mikołajczak
Ośrodek Radioizotopów POLATOM
Narodowe Centrum Badań Jądrowych
ul. Andrzeja Sołtana 7
05-400 Otwock

18.02.2022 r

Recenzja rozprawy doktorskiej
pt. „Wydzielanie technetu-99m z napromieniowanej protonami tarczy
molibdenowej”

mgr Magdaleny Gumiełi
z Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej

Promotor: prof. dr hab. Aleksander Bilewicz

Rozprawa doktorska mgr Magdaleny Gumiełi opisuje badania nad sposobem wydzielenia technetu-99m z mieszaniny powstałej po rozpuszczeniu napromieniowanego protonami materiału tarczowego zawierającego molibden wzbogacony w izotop molibden-100. Technet-99m jest najczęściej na świecie stosowanym radionuklidem do badań diagnostycznych w medycynie nuklearnej ze względu jego własności fizyczne a także szeroką dostępność z generatorów radionuklidowych $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$. W generatorach obecnych na rynku stosowany jest radionuklid macierzysty, molibden-99, otrzymywany z produktów rozszczepienia uranu-235 po jego aktywacji neutronami w reaktorze jądrowym. W wyniku światowego kryzysu w produkcji molibdenu-99 oraz nieplanowanych przerw w pracy reaktorów jądrowych, wystąpiły ograniczenia w dostępności technetu-99m do badań diagnostycznych u pacjentów. Wywołało to szereg działań mających na celu zapobieganie takim ograniczeniom. Jedną z alternatywnych technologii otrzymywania technetu-99m bez konieczności korzystania z reaktorów jądrowych jest napromienianie protonami w cyklotronie tarcz zawierających stabilny molibden wzbogacony w izotop molibden-100. Do tego celu mogą być wykorzystane cyklotrony tzw. medyczne, o energii protonów 16 MeV. Jednakże wyzwaniem jest wydzielenie technetu-99m

z roztworu powstałego po rozpuszczeniu napromienionej w cyklotronie tarczy oraz odzysk molibdenu-100. Do rozwiązania tego problemu doktorantka zaproponowała zastosowanie metody polegającej na wytrącaniu izotopów molibdenu w postaci fosfomolibdenianu amonu, zakładając że roztwór z osadu będzie zawierał technet-99m przy znacznie zredukowanej zawartości molibdenu, natomiast w osadzie będzie się znajdował molibden-100, który będzie można odzyskać do kolejnych cykli produkcyjnych. W mojej ocenie wybór tematu badań jest niezwykle trafny i uzasadniony konkretnym medycznym celem aplikacyjnym. Praca była realizowana dzięki udziałowi zespołu pod kierunkiem prof. Aleksandra Bilewicza, promotora doktorantki, w projekcie koordynowanym Międzynarodowej Agencji Energii Atomowej w Wiedniu oraz Projekcie Badań Stosowanych NCBI R „Alternatywne metody produkcji technetu-99m” (ALTECH), co stanowi dodatkowy dowód ważności podjętej tematyki. Warto zaznaczyć, że problemy z dostawami Mo-99 pojawiły się ponownie w lutym bieżącego roku, gdy nagle z pracy został wyłączony reaktor w Holandii, jak widać potrzeba alternatywnych metod produkcji technetu-99m wciąż jest aktualna.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska liczy ogółem 136 stron, w podziale na 5 głównych rozdziałów z podrozdziałami, 33 tabele i 70 rysunków. Napisana jest w sposób klasyczny i składa się z przeglądu literaturowego, części eksperymentalnej, wyników z dyskusją i podsumowania. Zasadniczą część rozprawy stanowi rozdział 4, w którym Doktorantka przedstawia uzyskane wyniki i dokonuje ich krytycznej oceny, w konsekwencji prowadzącej do podsumowania i wniosków opisanych w rozdziale 5. Przegląd literatury zawiera 199 cytowanych pozycji, z tej liczby 173 pozycje w części literaturowej i dalsze 26 w części eksperymentalnej. Zakres tematyczny wyboru literaturowego jest bardzo szeroki i wszechstronnie przedstawia badane zagadnienie. Mgr Magdalena Gumiela zamieściła też dodatkowe informacje, czyli spis własnych publikacji i patentów. Jest to bardzo pomocne w oszacowaniu jej bezpośredniego zaangażowania w uzyskanie prezentowanych wyników. Doktorantka jest pierwszym autorem w dwóch publikacjach oraz współautorem w 4 innych. Znaczna część dysertacji to wyniki publikowane przez Doktorantkę a ich walor praktyczny potwierdza uzyskany patent PL 225264 „Sposób otrzymywania diagnostycznych ilości radionuklidu ^{99m}Tc z naświetlonych w cyklotronie tarcz molibdenowych”.

W części literaturowej Doktorantka wprowadza czytelnika w temat wykorzystania substancji promieniotwórczych w medycynie, radiofarmaceutyków do diagnostyki i terapii, roli technetu-99m w badaniach medycyny nuklearnej oraz chemii technetu-99m i metod jego otrzymywania. Szczegółowo omawia metodę otrzymywania technetu-99m poprzez napromienianie protonami

wzbogaconej w izotop molibden-100 tarczy w cyklotronie. Przedstawia zarówno zalety jak i ograniczenia tej metody, jasno formułując problem, który zamierza rozwiązać w swojej dysertacji. Przeprowadzona analiza źródeł jest obszerna, a sformułowana na jej podstawie hipoteza badawcza jest konsekwentnie weryfikowana przez Doktorantkę w części eksperymentalnej. Przy czym mgr Magdalena Gumiela ma pełną wiedzę na temat ograniczeń, jakie stawia przed badaczem proces otrzymywania technetu-99m metodą cyklotronową.

Część dotycząca wyników i dyskusji rozprawy jest przedstawiona wyczerpująco i merytorycznie, zajmuje ponad 60 stron. Wskazuje na doświadczenie Doktorantki w pracy laboratoryjnej z zastosowaniem licznej nowoczesnej aparatury pomiarowej i metod analitycznych, opanowanie warsztatu badawczego, umiejętność wyboru i zastosowania metod rozdzielczych, metodyki znakowania izotopowego, technik analitycznych w tym atomowej spektrometrii absorpcyjnej (AAS), spektrometrii mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS), chromatografii cienkowarstwowej (TLC) oraz wysokosprawnej chromatografii ciekłowej (HPLC) oraz technik termograficznej analizy chemicznej, skaningowej mikroskopii elektronowej w połączeniu z mikroanalizą rentgenowską oraz dyfrakcji rentgenowskiej.

Za najważniejsze osiągnięcie Doktorantki uważam zbadanie procesu wytrącania molibdenu w postaci fosfomolibdenianu amonu (AMP), w tym wpływu stężenia kwasu azotowego(V), stechiometrii fosofranu(V) amonu, stężenia azotanu(V) amonu a także wpływ czasu, temperatury i mieszania w trakcie procesu na stężenie molibdenu w roztworze nad osadem. Mgr Magdalena Gumiela sprawdziła również, że zachodzi współstrącanie ^{99m}Tc z AMP na poziomie 10-20%, co może wpływać na wydajność proponowanej metody. Jako narzędzie do weryfikacji przydatności otrzymywanego technetu-99m, a w szczególności w celu zbadania wpływu zawartości molibdenu w roztworze zawierającym technet-99m, zarówno z przerobu tarcz będących surogatami jak i tarcz zawierających molibden-100, Doktorantka zastosowała metody służące do badania wydajności znakowania (oceny czystości radiochemicznej) trzech substancji, o których wiadomo, że tworzą wydajnie kompleksy z technetem-99m otrzymywanym z generatorów radionuklidowych. Tam, gdzie to było niezbędne wprowadziła też dodatkowe etapy oczyszczania technetu-99m od nadmiaru molibdenu i zanieczyszczeń radionuklidowych. Szczegółowo zbadała warunki rozdzielenia technetu od pozostałych składników otrzymanych po wytrąceniu molibdenu w postaci AMP na kolumnach chromatograficznych ze złożem C18 pokrytym PEG-2000 oraz na żywicy Analig®Tc-02, wykazując wyższy odzysk i w mniejszą objętość końcową roztworu z tej

żywicy. Drugim ważnym elementem pracy jest podjęta próba odzysku molibdenu. Do tego celu Doktorantka zaproponowała metodę redukcji w wysokiej temperaturze 810°C. Zbadała przebieg tego procesu oraz scharakteryzowała próbki przed i po redukcji, wskazując na istotne zalety otrzymanego w ten sposób materiału zawierającego molibden (docelowo molibden-100) przy rozważanym ponownym napromienianiu tego materiału protonami w cyklu produkcyjnym technetu-99m.

Stwierdzam, że rozwiązanie postawionego zadania zostało przeprowadzone prawidłowo, a przyjęte założenia i metody nie budzą większych zastrzeżeń. Jednakże, z obowiązku recenzenta, muszę wskazać na pewne niedociągnięcia w przygotowaniu dysertacji. Cel pracy został określony bardzo ogólnie jako „opracowanie nowej metody wydzielenia ^{99m}Tc z tarcz molibdenowych (wzbogaconych w izotop ^{100}Mo) poddanych napromienianiu protonami w cyklotronie”. Autorka nie wymieniła celów szczegółowych a jedynie podsumowała to, co zrobiła w ramach celu głównego tj. (1) zbadała możliwość oddzielenia mikroilości ^{99m}Tc od makroilości ^{100}Mo stosując reakcję wytrącania fosfomolibdenianu amonu; (2) oceniła przydatność opracowanej metodologii poprzez wyniki znakowania wydzielonym ^{99m}Tc zestawów diagnostycznych stosowanych w medycynie nuklearnej; (3) zbadała możliwość odzysku ^{100}Mo . Brak założeń dla parametrów jakie ma spełnić opracowywana metoda oraz brak rozróżnienia pomiędzy celami projektu a jego wynikami nieco utrudnia ocenę poprawności przyjętej hipotezy badawczej. Dopiero po wnikliwej lekturze opisu badań w części doświadczalnej oraz ich wyników i dyskusji można wyciągnąć wnioski, że przyjęte postępowanie jest uzasadnione i logiczne a cele pracy zostały zrealizowane.

Innym drobnym mankamentem jest fakt, że w części doświadczalnej zabrakło opisu, jak zostały przeprowadzone badania z napromienianiem tarczy wzbogaconej w ^{100}Mo w cyklotronie oraz wydzieleniem z niej technetu-99m. Informacje na temat sposobu przygotowania tej tarczy, jej napromieniania i przetwarzania można odnaleźć w części 4.4. a wyniki znakowania technetem-99m otrzymanym z tego napromieniania można znaleźć w sekcji 4.2.3.

Jak pisałam wcześniej, pracę mgr Magdaleny Gumieli oceniam wysoko, tym niemniej prosiłabym aby zechciała się ustosunkować do niżej wymienionych uwag o charakterze dyskusyjnym w trakcie publicznej obrony.

W części dotyczącej metod, na str. 68 Doktorantka wymienia zastosowane układy chromatografii cienkowarstwowej (Tabele 15 i 16), których użyła do oceny czystości radiochemicznej preparatów ^{99m}Tc -DTPA i ^{99m}Tc -[EDDA/trycyna]-HYNIC-SP(1,11) powołując się na źródła literaturowe. Natomiast po Tabeli 16 podaje, że podczas jednej z syntez

wykonała analizę TLC [^{99m}Tc]Tc-(EDDA/trycyna)-HYNIC-SP(1,11) rozwijając chromatogram wyłącznie w etanolu, nie podając uzasadnienia dla tego wyboru. Prosiłabym o odniesienie się do powyższego jak również o uzasadnienie, czym Doktorantka kierowała się stosując w analityce wyznakowanego kompleksu [^{99m}Tc]Tc-MIBI metodę HPLC a nie TLC? W literaturze można znaleźć informacje na temat układów TLC zalecanych do oceny czystości radiochemicznej [^{99m}Tc]Tc-MIBI, jest to też element informacji o leku (<https://www.polatom.pl/wp-content/uploads/2021/07/2018.02.09-PoltechMIBI-SPCh-1.pdf>). Szczególnie, że metoda HPLC ujawniła dodatkowe piki w obszarze Rt 10-15 min, które nie zostały zidentyfikowane (Rys.36). Te piki da się również zaobserwować na chromatogramach przedstawionych na Rys. 43 i 44. Może warto by się było pokusić o wyjaśnienie natury tych pików?

Nasuwa się też wątpliwość dotycząca sformułowania użytego przez Doktorantkę na str. 87 „Jak można zauważyć chromatogramy uzyskane dla produktów syntezy [^{99m}Tc]Tc-MIBI bez obecności molibdenu (Rys.22) i z dodatkiem molibdenu w ilości odpowiadającej stężeniu nad osadem AMP są w zasadzie identyczne (Rys.23)” podczas gdy liczba zliczeń na osi Y wynosi ok. 120 (Rys. 22) oraz ok.10 000 na Rys.23., co oznacza, że radioaktywność analizowanych próbek różniła się znacząco i może wskazywać na odmienne warunki znakowania i warunki analityczne w porównywanych przypadkach.

Prosiłabym też Doktorantkę o doprecyzowanie na czym opiera sformułowanie, którego użyła na stronie 104, „Skłania mnie to do wniosku, iż nie jest to nadtechnecjan ale Mo-99 w formie molibdenianu”. Czy podjęła próbę potwierdzenia tego wniosku pomiarami?

Odrębnego wyjaśnienia wymagałoby zagadnienie dopuszczalnego poziomu chemicznego stężenia molibdenu. Opinia Doktorantki na ten temat pojawiająca się w kilku miejscach w pracy jest niejednoznaczna. Czy rzeczywiście można twierdzić, że „Radiopreparat nie może zawierać stężenia molibdenu wyższego niż 30 ppm” (patrz str. 107)? Chociaż aktualna monografia Farmakopei Europejskiej dla technetu-99m otrzymywanego w cyklotronie nie określa limitu dla molibdenu jako zanieczyszczenia chemicznego to jednak określa taki limit dla zawartości molibdenu-99 na poziomie 0,005 % całkowitej aktywności. Tym samym zawartość molibdenu-99 staje się parametrem pośrednio wskazującym na skuteczność zastosowanej metody rozdziału i w konsekwencji będzie limitować chemiczne stężenie molibdenu, ponieważ w procesie przerobu rzeczywistych tarcz z molibdenu-100 napromieniowanych protonami w cyklotronie radioaktywny molibden-99 nieodłącznie towarzyszy jego pozostałym izotopom.

Inne drobne nieścisłości:

Na stronie 13 pojawia się stwierdzenie „ Radiofarmaceutyki emitujące promieniowanie γ bądź β^+ są stosowane w diagnostyce, tj. w scyntygrafii, w technice PET, SPECT czy radioimmunologii”. Wymienienie radioimmunologii jako metody, w której są stosowane radiofarmaceutyki wygląda na nieporozumienie – chyba że chodziło o radioimmunoterapię?

Na stronie 97, w drugiej linii od góry błędnie przywołano publikację [196]. Wcześniej, w podobnym kontekście przywołane były pozycje [170, 171].

Na str. 68 Doktorantka użyła sformułowania: „TLC wykorzystywałam w celu wstępnego określenia składu mieszaniny reakcyjnej i stopnia przereagowania ...” To nieprecyzyjne określenie dobrze by było skorygować, bo metoda TLC raczej nie służy do określania składu mieszaniny reakcyjnej.

Pracę doktorską mgr Magdaleny Gumieli pt. „Wydzielanie technetu-99m z napromieniowanej protonami tarczy molibdenowej” oceniam wysoko. Doktorantka podjęła się wyzwania opracowania niestandardowej metody strącania nadmiaru molibdenu w celu wyizolowania technetu-99m oraz wykazała, że tak otrzymany technet-99m można w kolejnych etapach doprowadzić do postaci odpowiedniej do zastosowań medycznych. Przedstawiona do recenzji dysertacja spełnia wymogi stawiane przez ustawodawcę pracom doktorskim. Pewne drobne manakmenty, budzące moje zastrzeżenia, nie wpływają na ogólną ocenę pracy, na wyciągnięte wnioski i nie umniejszają znaczenia przedstawionych wyników. Uważam, że Doktorantka jest w pełni dojrzałą kandydatką do organizowania i prowadzenia badań naukowych, spełnia tym samym kryteria stawiane pracownikom naukowym ubiegającym się o stopień naukowy doktora.

Podsumowując, oceniam przedstawioną rozprawę doktorską jako bardzo dobrą, spełniającą wymagania ustawy dotyczące rozpraw doktorskich i wnoszę o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr Magdaleny Gumieli do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Prof. dr hab. inż. Renata Mikołajczak