



UNIwersytet
WARSAWski

Wydział Chemii



Warszawa, 14.10.2019 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

magistra Rafała Walczaka

pt. "Radionuklidy skandu dla radiofarmaceutyków teranostycznych"

Promotor pracy: prof. dr hab. Aleksander Bilewicz

Promotor pomocniczy: dr hab. Marek Pruszyński

Rozprawa doktorska magistra Rafała Walczaka dotyczy opracowania metody wytwarzania nowych celowanych radiofarmaceutyków opartych na radionuklidach skandu. Praca zawiera przekrój badań związanych z wytwarzaniem i wydzielaniem radioizotopów, określeniem właściwości chemicznych i biologicznych związków zawierających otrzymane radioizotopy oraz oceną potencjału wykorzystania otrzymanych związków w diagnostyce i terapii medycznej. W pracy doktorant stosował radionuklidy skandu ^{43}Sc i ^{44}Sc będące emiterami promieniowania β^+ oraz ^{47}Sc - emiter promieniowania β^- , który może znaleźć zastosowanie do produkcji radiofarmaceutyków terapeutycznych. Radionuklidy te tworzą wspólnie tzw. pary teranostyczne, posiadające identyczne właściwości chemiczne, będące emiterami różnego promieniowania i mogące znaleźć zastosowanie do produkcji radiofarmaceutyków teranostycznych. Badane radionuklidy ^{43}Sc i ^{44}Sc stanowią alternatywę dla stosowanego obecnie na szeroką skalę w diagnostyce PET ^{68}Ga . Izotopy te charakteryzują się prawie czterokrotnie dłuższym czasem połowicznego rozpadu, dzięki czemu synteza opartych na nich radiofarmaceutyków oraz ich kontrola jakościowa może odbywać się w cyklotronowym centrum produkcji radionuklidu, a następnie gotowy do użycia radiofarmaceutyk może być dystrybuowany do szpitali na większym obszarze.

Praca została wykonana w Instytucie Chemii i Technologii Jądrowej pod kierunkiem prof. dr hab. Aleksandra Bilewicza oraz dr hab. Marka Pruszyńskiego (promotor pomocniczy). Jest ona zgodna zakresem prowadzonych w ICHTJ działań związanych z poszukiwaniem nowych radioizotopów i możliwością ich wykorzystania w diagnostyce i terapii medycznej. Pracę cechuje interdyscyplinarne podejście do problemu badawczego uwzględniające praktyczne aspekty związane z komercyjnym zastosowaniem uzyskanych rezultatów.

Przedstawiona do oceny praca zawiera 111 stron, 36 rysunków oraz 28 tabel. Spis literatury zawiera 107 pozycji. Praca składa się z wprowadzenia oraz części literaturowej (33 strony), części doświadczalnej (20 stron) oraz eksperymentalnej (46 stron), podsumowania i wniosków oraz spisów publikacji i literatury.

Na początku części teoretycznej autor omówił podstawowe zagadnienia dotyczące medycyny nuklearnej w aspekcie stosowania metod diagnostycznych PET i SPECT oraz metod terapeutycznych ze szczególnym uwzględnieniem terapii radionuklidowej oraz teranostyki. Przedstawiając najpopularniejsze pary radioizotopów teranostycznych mgr Rafał Walczak przeszedł do omówienia izotopów skandu, ich właściwości i zastosowania. W tej części pracy autor położył szczególny nacisk na zagadnienia związane z otrzymywaniem radioizotopów skandu, wydzielaniem ich z matryc oraz syntezą radiofarmaceutyków opartych na tych radioizotopach. Uważam, że część teoretyczna została opracowana przez doktoranta dobrze. Mgr Rafał Walczak przedstawił problematykę pracy w sposób zwięzły i prosty. Pomimo, pozytywnej opinii oczekiwałbym jednak pełniejszego opisu właściwości radioizotopów skandu, związanych np. z emisją obok promieniowania β^+ i β^- promieniowania γ a w konsekwencji ograniczeń wynikających z występowania razem kilku rodzajów promieniowania na możliwość wykorzystania danych radioizotopów w praktyce klinicznej. Znaczna część tych informacji znajduje się w kilku miejscach w dalszej części pracy. Wprowadzenie w części literaturowej zalet i ograniczeń analizowanych radioizotopów podkreśliłoby świadome podejście do zagadnienia badawczego.

W części doświadczalnej mgr Rafał Walczak omówił wykorzystywane w trakcie realizacji pracy techniki pomiarowe, sposoby otrzymywania radionuklidów skandu, odzysku materiału tarczowego oraz syntezy radiobiokoniugatów i badania ich właściwości z wykorzystaniem materiału biologicznego. Na podkreślenie zasługuje zaprezentowanie najważniejszych aspektów związanych z wydzielaniem radionuklidów skandu z tarcz na bazie CaCO_3 , generatora $^{47}\text{Ca}/^{47}\text{Sc}$ oraz tarcz na bazie TiO_2 .

W części eksperymentalnej doktorant zaprezentował uzyskane wyniki oraz wnioski. Do najważniejszych z nich należą:

1. Produkcja cyklotronowa radionuklidów diagnostycznych ^{43}Sc i ^{44}Sc zachodzi z dużą wydajnością na tarczach z naturalnego CaCO_3 w reakcji $^{40}\text{Ca}(\alpha, n)^{43}\text{Sc}$ i na tarczach wzbogaconych izotopowo w reakcji $^{42}\text{Ca}(d, n)^{43}\text{Sc}$, $^{44}\text{Ca}(p, n)^{44}\text{Sc}$. Otrzymane radionuklidy charakteryzują się bardzo wysoką czystością radionuklidową.
2. Do uzyskania radionuklidu terapeutycznego ^{47}Sc z reakcji $^{48}\text{Ca}(p, d)^{47}\text{Ca} \rightarrow ^{47}\text{Sc}$ wykorzystywany może być opracowany przez doktoranta generator $^{47}\text{Ca}/^{47}\text{Sc}$ oparty na dwuetapowej mikrofiltracji. Pozwala on na uzyskanie radionuklidowo czystego roztworu ^{47}Sc , pozbywając się produktów ubocznych (^{46}Sc i ^{48}Sc) powstałych w czasie napromieniowania tarczy.
3. Do wydzielenia radionuklidów skandu z tarcz CaCO_3 optymalną metodą jest mikrofiltracyjna. Zastosowanie dodatkowej kolumny pozwoliło zmniejszyć objętości roztworu zawierającego radionuklidy skandu oraz usunąć zanieczyszczenia metaliczne.
4. Znakowanie wykorzystywanych biokoniugatów zachodzi z wysoką wydajnością przekraczającą 90% już dla ilości 10 nmol biokoniugatu. Oznacza to możliwość produkcji radiofarmaceutyków o dużej aktywności właściwej opartych na tych biomolekułach.

5. Dla zsyntezowanych radiobiokoniugatów otrzymane wyniki potwierdziły wysoką specyficzność łączenia się otrzymanych radiobiokoniugatów z receptorami HER-2 oraz na średni poziom internalizacji na poziomie około 30-50% dla $^{43/44/47}\text{Sc-DOTA-NB}$ i $^{43/44/47}\text{Sc-DTPA-NB}$. W przypadku badanych radiobiokoniugatów przyłączenie ligandu i radionuklidu nie zmieniło istotnie specyficzności i powinowactwa komórkowego badanych biomolekuł.

Pomimo niewątpliwie dużego sukcesu doktoranta, polegającego na kompletnym zrealizowaniu celu rozprawy mam jednak pewne zastrzeżenia i uwagi do pracy. Dotyczą one m.in. braku precyzji w sformułowaniach, drobnych niedociągnięć językowych itp. Najważniejsze uwagi:

1. „...Charakteryzują się one optymalnymi parametrami do zastosowania...”, str. 5, Autor nie wymienia i nie omawia optymalnych parametrów.
2. $T_{1/2}$ dla ^{44}Sc na stronach 14 i 30 jest różny.
3. „...Taki rodzaj produkcji i odpowiednio długi czas połowicznego rozpadu tych radionuklidów umożliwia syntezę radiofarmaceutyku bezpośrednio w centrum cyklotronowym i pozwala na dostarczenie produktu na odległość nawet do 200 km...”, str. 14. Odległość 200 km jest raczej zaniżona, w chwili obecnej transport radiofarmaceutyków o krótszym czasie połowicznego zaniku odbywa się na większe odległości.
4. „ $E_{2\max}$ 440,72 keV (68,4%)”. Strona 15 – wskazana jest weryfikacja wartości energii
5. przedstawione na rys. 1 dane wskazują na systematyczny nie znaczący wzrost liczby publikacji
6. brak doboru współczynników w równaniu na stronie 32: $\text{TiO}_2 + \text{HF} \rightarrow \text{H}_2\text{TiF}_6$
7. brak odnośników do rys. 2 i tabeli 8
8. brak informacji na temat wartości błędów pomiarowych w tabeli 17

Przedstawione powyżej uwagi mają charakter techniczny a ich istnienie jest nieuniknione. Mając na uwadze całość pracy proszę o dokładniejsze odniesienie się doktoranta do następujących kwestii:

1. Proszę zaprezentować i omówić „optymalne” parametry wykorzystywanych radioizotopów oraz rozwinąć sformułowanie „Z przeprowadzonych badań wynika, że związki oparte na radionuklidach skandu przyłączonych do trastuzumabu lub nanociała 2Rs15d spełniają wymagania stawiane radiofarmaceutykom” (str. 7). W pracy brakuje informacji na temat tych wymagań.
2. Omówić przyczyny braku korelacji obecności jonów żelaza na wydajność znakowania DOTATATE ^{44}Sc (str. 97-100). W szczególności dotyczy to omówienia możliwości zajścia procesu redukcji jonów Fe^{3+} do Fe^{2+} w analizowanym układzie eksperymentalnym.

Przedstawione powyżej uwagi i pytania nie mają wpływu na moją pozytywną końcową ocenę rozprawy, którą oceniam bardzo dobrze.

Podsumowując, mgr Rafał Walczak przedstawił wartościową pracę, w której zaprezentował szczegółowo metody wytwarzania nowych celowanych radiofarmaceutyków opartych na radionuklidach skandu. Praca zawiera przekrój badań z zakresu produkcji wybranych radionuklidów oraz określenia właściwości chemicznych i biologicznych radiofarmaceutyków zsyntezowanych z ich wykorzystaniem. Przedstawione wyniki wymagały ogromnego zaangażowania w skrupulatne przeprowadzenie i analizę uzyskanych wyników. Na podkreślenie zasługuje interdyscyplinarny i aplikacyjny charakter pracy oraz szeroka współpraca w zakresie badań nad wykorzystaniem radioizotopów z wiodącymi w danym obszarze jednostkami naukowymi z kraju i zagranicy. O wartości naukowej przedsięwzięcia świadczy przedstawienie uzyskanych rezultatów w pięciu artykułach w czasopiśmie o międzynarodowym zasięgu. Mgr Rafał Walczak przedstawił się jako doświadczony eksperymentator, umiejący zaprojektować doświadczenie i wyciągnąć z uzyskanych rezultatów prawidłowe wnioski. Należy także podkreślić dobrą znajomość i umiejętność stosowania w badaniach nowoczesnych technik fizykochemicznych, a przede wszystkim technik radiochemicznych.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska magistra Rafała Walczaka w pełni spełnia warunki określone ustawą o stopniach i tytułach naukowych. Na tej podstawie wnioskuję do Rady Naukowej o dopuszczenie magistra Rafała Walczaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoką jakość pracy, jej interdyscyplinarność oraz szerokie rozpowszechnienie wyników badań wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



dr hab. Zbigniew Rogulski