

РЕЦЕНЗИЈА

**НА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА СО НАСЛОВ „РАЗВОЈ И ВАЛИДАЦИЈА
НА НОВ МЕТОД ЗА СИНТЕЗА НА НАТРИУМ [¹⁸F] ФЛУОРИД [¹⁸F]NaF
РАДИОФАРМАЦЕВТИК“ ПРИЈАВЕНА НА ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ
НАУКИ, УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП**

Со Одлука број 0206-854/5 од 26.12.2022 година, донесена на 66. седница на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 – Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, формирана е Комисија за оценка и одбрана на докторската дисертација со наслов **Развој и валидација на нов метод за синтеза на натриум [¹⁸F] флуорид [¹⁸F]NaF радиофармацевтик**, пријавена и изработена од кандидатката м-р Марија Атанасова-Лазарева, во состав:

- проф. д-р Бистра Ангеловска, претседател
- проф. д-р Емилија Јаневик-Ивановска – интерен ментор, член
- проф. д-р Ана Угринска – екстерен ментор, член
- проф. д-р Катарина Смилков – член
- проф. д-р Марија Главаш Додов – член

Комисијата во наведениот состав го разгледа доставениот материјал и го поднесува следниов:

ИЗВЕШТАЈ

Анализа на трудот

Докторската дисертација која е пријавена и изработена од кандидатката м-р Марија Атанасова Лазарева претставува оригинален труд кој согласно програмата на третиот циклус на студии на студиската програма по фармацевтски науки е напишана на 159 страници, А4 формат, со вкупно 38 табели, 88 слики, 131 литературни цитати.

Дисертацијата ги опфаќа следните поглавја: Краток извадок на македонски и англиски јазик, Листа на кратенки, Вовед, Преглед на литература, Цели на истражувањето, Материјалите и методите на работа, Резултати, Дискусија, Заклучоци и Користена литература.

Докторандот м-р Марија Атанасова-Лазарева на соодветен, стручен, разбирлив и терминолошки издржан начин ја напишала докторската дисертација, овозможувајќи следственост на сите делови, давајќи јасно и видливо образложување на истражувачката работа реализирана во дисертацијата.

Во понатамошниот тек од овој извештај е даден краток осврт за секое поглавје од докторската дисертација.

Во **Воведот** е направена разработка на тезите за предметното истражување со приказ на теоретски сознанија од областа и преглед на литературата. Даден е детален и прецизен осврт и дефинирање на радиофармацевтици за позитронско-емисиона томографија (ПЕТ) како биолошки активни супстанции обележани со радионуклеид (радиоактивни изотопи), нивното добивање и улога во визуелизациона дијагностика кај пациенти со различни заболувања. Во продолжение кандидатката се осврнува на радиофармацевтскиот препарат Натриум [¹⁸F] флуорид [¹⁸F]NaF кој е предмет на истражувањето преку дефинирање на неговата улога во нуклеарната медицина во постапките за визуелизација на метастази на коските во онкологијата и за визуелизација на кардиоваскуларни микрокалцификати. Преку објаснување на механизмот на акумулација на Натриум Флуорид [¹⁸F]NaF, кој со навлегување во екстрацелуларниот простор на коските во делот со врзана вода која што го опкружува секој кристал хидроксиапатит и со хемиспорпција на хидроксиапатитот и замена на $18F^-$ со OH^- (хидроксидните групи) од површината на хидроксиапатитот формира флуороапатит. Овој механизам претставува основа врз база на која со воведувањето

на ПЕТ технологијата повторно се зголеми интересот за $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ посебно за визуелизација на кардиоваскуларни микрокалцификати.

Во второто поглавје, насловено како **Преглед на литература**, м-р Марија Атанасова-Лазарева успева преку еден континуитет во презентирање на податоци од литературата да го објасни и производството и контролата на квалитет на радиофармацевтски препарати вклучително и производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$, просторните капацитети потребни за производство, постапките за валидации на постапките за чистење на опремата, асептична валидација на процесот на производство и студии на стабилност на произведениот краен производ. Посебен литературен осврт е даден на неговите фармакологија, механизмите на акумулација и биодистрибуција, а се заради зголемувањето на неговиот интерес за користење во клиничките испитувања.

Најголемиот број на трудови обработени во ова поглавје на дисертацијата се со понов датум што оди во прилог на актуелноста на проблематиката, како и во дефинирање на предметот на истражување.

По обемниот и детален литературен преглед следува делот во кој кандидатот прецизно ги дефинира и претставува **Целите на истражувањето**. Главна цел на докторската дисертација е да се развие нов едноставен метод за полу-автоматска синтеза на радиофармацевтикот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$, притоа користејќи го само апаратот за делење на дози, без да се користи модул за синтеза. За таа цел е направена модификација на китот за делење на дози, со дополнително инсталирање на Y-конектор и анјон-изменувачки кертриџ. Вака развиениот производствен процес овозможува последователно реализирање на процесот на синтеза и делење на дозите на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$, што го прави временски пократок и економски поисплатлив.

Како потцели на докторскиот труд кандидатот предлага:

- Дефинирање на најповолните услови и потрошните материјали на производниот процес (притисок, времетраење и начин на испорака и други варијабли, тип на анјон-изменувачки кертриџ, влијание на катјон-изменувачки кертриџ во комбинација со анјон-изменувачки кертриџ врз квалитетот на радиофармацевтикот и начин и волумен на елуција)
- Утврдување на квалитет и рок на употреба на произведениот радиофармацевтик со ново развиениот метод (валидација на постапката на чистење, асептична валидација на процесот на производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ раствор за инјектирање и дизајн и изведба на студија на стабилност според водичите од Интернационалната конференција за хармонизација и одредување на рокот на употреба на произведениот ПЕТ радиофармацевтик).

Реализацијата на предвидените цели, од страна на кандидатката м-р Марија Атанасова-Лазарева детално е презентирана и објаснета во поглавјето **Материјали на истражувачка работа** презентирајќи ја истовремено и методологијата на работењето, како и начинот на **обработка на добиените резултати**. Во ова поглавје, кандидатката преку објаснување на дизајнот на студијата и процесот на производство ги наведува сите материјали кои се користени во изработката на докторската дисертација и кои се со соодветен квалитет. Користените материјали се однесуваат на процесите на производство производството на изотоп $^{18}\text{F}[\text{F}^-]$ во циклотрон, на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик и нивната контрола на квалитет.

Користените методи во изработката на докторската дисертација, кандидатката детално ги образложува на начин на кој се добива јасна претстава за начинот на кој тие се воведени, валидирани и потврдени, а со самото тоа и претставуваат гарант за повторливост на составот и квалитетот на финалниот производ. По дефинирање на параметрите во производниот процес и валидација на процесот на производство, изведена е студија на стабилност за да се одреди рокот на употреба и квалитетот на радиофармацевтикот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ во предложениот рок на употреба. Сето ова ја прави целокупната студија сеопфатна и издржлива.

Во поглавјето **Резултати**, м-р Атанасова-Лазарева систематски ги презентира добиените резултати од истражувањето согласно однапред поставените цели.

За добивање соодветен радиофармацевтик потребен е квалитетен радионуклид со соодветен принос, така да на почетокот кандидатката ги презентира резултатите добиени од секоја производна серија на радиоизотопот $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$, влијанието на разни типови на анјон-изменувачки кертрици врз приносот и квалитетот на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик, задржаната радиоактивност и приближната рН вредност. Крајниот квалитет беше потврден по анализа на добиените резултати од контролата на квалитет и гама спектроскопска идентификација на добиениот радионуклид, хемиска, радиохемиска и радионуклидна чистота.

Во обемните резултатите презентирани табеларно и графички, анализирани се и влијанијата на разни параметри и користени материјали врз финалниот принос и квалитетот на произведениот радиофармацевтик. Резултатите дадоа вредности од извршените мануелни и полу-автоматски синтети, кои беа искористени за дефинирање на најповолните параметри за процесот на производство.

Резултатите добиени од предложените методи за контрола на квалитет, а согласно монографијата од Европската фармакопеја, беа гарант за постојаност на добиениот производ од сите производни серии. Истите беа користени во студиите на стабилност и овозможуваа споредливост.

Добиените резултати од валидација на чистењето на опремата која се користи за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ и докажување на ефикасноста на чистењето, беше потребно за изведување на асептичната валидација на процесот на производство преку претходно дефинирање на стандардна оперативна постапка. Тестираните биобурден примероци изведени во медиум кој поддржува раст на микроорганизми како генерално прифатен метод за валидација на асептично работење беа без микробиолошки раст, односно беа стерилни. Резултатите од примероците тестиран за бактериски ендотоксини се $<5 \text{ IU/mL}$, што е во критериумот на прифатливост.

Кандидатката преку резултатите добиени од студијата на стабилност на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик изведена на три серии произведени со апарат за делење на дози и користење на модифициран кит со таргет концентрација 1000 MBq/mL и фреквенција дефинирана на секои два часа во рок од десет часа покажа дека добиениот радиофармацевтик е стабилен за користење. Добиените резултати по реализираната контрола на квалитет од сите тестираните параметри (рН вредност, време на полураспаѓање, радиохемиска, хемиска и радионуклидна чистота, бактериски ендотоксини, стерилност) потврдија дека $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ раствор за инјектирање, како неорганска сол, е стабилен и не е забележана декомпозиција во текот на дефинираниот временски рок на употреба. Од податоците за стабилноста, врз основа на тестирање на три серии од $[^{18}\text{F}]\text{натриум флуорид}$ радиофармацевтски производ, рокот на траење беше утврден на 10 часа, кога се чува на контролирана собна температура од 18 до 22 °C. Истиот се предлага дека може да се користи за клинички студии.

Во поглавјето **Дискусија**, кое следува, докторандката м-р Атанасова Лазарева на еден разбирлив, детален и компетентен начин ги толкува добиените резултати, ја објаснува значајноста одредените вредности кои се добиени и нивната применливост во производниот процес. Таа истовремено ја толкува релевантноста на добиените резултати преку литературни податоци за разни типови на методи за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик, како и со комерцијално достапните модули за синтеза.

Заклучоците како посебно поглавје ги дава најважните образложенија за главните постигнувања во дисертацијата. Кандидатката јасно и со факти ги презентира сите елементи на истражувањето на докторската дисертација согласно добиените резултати и дава предлог истиот метод да се предложи за рутинско користење во клиничката пракса.

Во поглавјето **Литература**, кандидатката наведува 131 референца од понов датум кои се однесуваат на оваа проблематика. Овој податок, уште еднаш ја потврдува истражувачката актуелност на оваа тема и интересот за нејзините апликативни вредности.

Научен придонес

Докторскиот труд на м-р Марија Атанасова-Лазарева дава научен пристап во дефинирање на условите за производство на радиофармацевтик натриум $[^{18}\text{F}]\text{ флуорид}$ со користење на постоечка опрема, што претставува голем предизвик во производството на

ПЕТ радиофармацевтици и истовремено зголемување на нивната апликација во клиничката пракса. Докторандката развива и методи за контрола на квалитетот на финалниот радиофармацевтик, како клучен сегмент за потврда на повторливоста и воедначеност на процесот на производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$. Прикажувањето на резултатите и нивното толкување кои следат на еден систематски пристап во истражувањето на најсоодветен начин кој ја отсликуваат способноста на кандидатот да работи самостојно.

Преку соодветна интерпретација на добиените резултати м-р Марија Атанасова-Лазарева ја потврдува оригиналноста на истражувањето и потребата од воведување на нови методи во синтеза на ПЕТ радиофармацевтски препарати, подобрување на условите за синтеза и воведување на нови аналитички постапки кои ќе го потврдат квалитетот и употребата во клинички испитувања.

Сите овие добиени резултати го потврдуваат научниот придонес на оваа докторска дисертација, која претставува прва од ваков вид во земјата и во регионот.

Апликативен придонес

Кандидатката конзистентно ги претставува добиените резултати прецизно дефинирани во целите и дизајнот на студијата, што овозможува веднаш да се види апликативниот придонес од оваа истражување.

Потребата од воведување на валидирани методи за производство на нови ПЕТ радиофармацевтици со користење на постоечка технологија и производствени капацитети е критичен параметар за зголемување на бројот на клинички постапки во користењето на позитронско-емисионата томографија, како една од најсофистицираните визуелизациони техники кај пациенти со различни заболувања. Зголемувањето на интересот кај клиничарите, бројот на пациенти преку зголемувањето на бројот на ПЕТ радиофармацевтици е еден од клучните апликативни придонеси. Истовремено вака развиениот производствен процес ќе овозможи последователно да се изведување на процесот на синтеза и делење на дозите на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$, што го прави процесот временски пократок и економски поисплатлив.

Резултатите од дисертацијата на кандидатката м-р Марија Атанасова-Лазарева можат да се гледаат како основа за понатамошни испитувања во оваа област.

Начин на пишување и изнесување на материјата

Докторската дисертација изработена под менторство на проф. д-р Емилија Јаневик-Ивановска, редовен професор на Факултетот за медицински науки при Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, како интересен ментор, и проф. д-р Ана Угринска, вонреден професор на Медицинскиот факултет при Универзитетот „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, како екстерен ментор, е напишана јасно, на научно и стручно ниво, испитувањата и анализите се добро систематизирани, добиените резултати се презентирани на ефективен, концизен и разбирлив начин. Добиените заклучоци се конкретни и самите по себе можат да бидат причина за понатамошни испитувања.

Конзистентноста на деловите во рамките на целината

Кандидатката преку добро дефинирани и меѓусебно поврзани и усогласени истражувања, користење на релевантни знаења од претходно воведени, стандардизирани и валидирани методи дава една целина која ги исполнува сите услови да биде прифатена како докторска дисертација.

Кандидатката конзистентно ги претставува објаснува добиените резултати, при што во дисертацијата презентира воведување на нов метод за синтеза и делење на дози на радиофармацевтик за позитронско-емисиона томографија - $[^{18}\text{F}]$ натриум флуорид ($[^{18}\text{F}]\text{NaF}$). Преку студијата на стабилност таа го утврди рокот на траење и оцени квалитетот на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ во дефиниран временски период, со што ја потврди потребата од воведување на нови методи во синтеза на ПЕТ радиофармацевтски препарати, подобрување на условите за синтеза и воведување на нови аналитички постапки кои ќе го потврдат квалитетот и употребата во клинички испитувања.

Исполнетост на законските услови за одбрана на докторатот

Кандидатката пред одбраната на докторската дисертација ги објави следните рецензирани научни трудови:

1. Atanasova Lazareva, M., Ugrinska, A., Janevik-Ivanovska, E. (2022). Research on the influence of different types of anion-exchange cartridges on the quality of [^{18}F]naf radiopharmaceutical as part of production process development. KNOWLEDGE - International Journal, 54(4), 661–667. ISSN: 2545-4439 (Online), 1857-923X (Printed)
2. Marija Atanasova Lazareva, Katerina Kolevska, Maja Chochevska, Maja Velickovska, Filip Jolevski, Ana Ugrinska, Emilija Janevik-Ivanovska (2022). Aseptic process validation of [^{18}F]Sodium Fluoride radiopharmaceutical in-house production. Mac.Pharm.Bull. 2022; 68(1) ISSN: 1857-8969 (Online), 1409 – 8695 (Printed)

ЗАКЛУЧОК И ПРЕДЛОГ

Комисијата за оценка и одбрана детално ја разгледа докторската дисертација со наслов „Развој и валидација на нов метод за синтеза на натриум [^{18}F] флуорид [^{18}F]NaF радиофармацевтик” и на англиски јазик “Development and validation of a new method of synthesis of Sodium Fluoride [^{18}F]NaF radiopharmaceutical“ и донесе заклучок дека истата претставува оригинален, самостоен, прецизно дефиниран и јасно оформен научен труд со систематски разработена проблематика и оригинални научни истражувања и резултати.

Докторската дисертација врз основа на содржината, обемот и постигнатото ниво на квалитет на научна работа ги задоволува и исполнува условите потребни за изработка на докторска дисертација.

Врз основа на тоа, Комисијата има чест да му предложи на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 да ја прифати позитивната рецензија на докторската дисертација со наслов „Развој и валидација на нов метод за синтеза на натриум [^{18}F] флуорид [^{18}F]NaF радиофармацевтик”, пријавена и изработена од кандидатката м-р Марија Атанасова-Лазарева и да и одобри јавна одбрана на истата.

РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА

Проф. д-р Бистра Ангеловска,

претседател, Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, с.р.

Проф. Емилија Јаневик-Ивановска,

член, ментор, Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, с.р.

Проф. д-р Ана Угринска,

член, екстерен ментор, Медицински факултет
Универзитет „Св. Кирил и Методиј” – Скопје, с.р.

Проф. д-р Катарина Смилков,

член, Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип, с.р.

Проф. д-р Марија Глава- Додов,

член, Фармацевтски факултет,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј” – Скопје, с.р.