

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát **Mgr. Adam Čepa**

Školitel **Prof. PharmDr. Ing. Milan Lázniček, CSc.**

Název disertační práce **Modifikace fragmentů protilátek, jejich značení nekonvenčními pozitronovými zářiči a biologické testování pro diagnostiku PET**

Zvláštní onkologická diagnostika vyžaduje nové typy selektivních radiofarmak, zejména těch, které jsou vhodné pro molekulární PET zobrazování a terapii potažmo teranostiku. Cílem této práce je představit nová radiofarmaka s cílenou distribucí pro diagnostiku immunoPET a terapii založenou na monoklonální protilátce IgG M75 zaměřené na humánní karboanhydrázu IX, nimotuzumab (hR-3) cílící receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR) a jeden z derivátů bombesinu (BBN) cílící GRP receptory. Tyto molekuly byly značeny radionuklidy ^{64}Cu ($t_{1/2}$ 12,70 hod.), ^{61}Cu ($t_{1/2}$ 3,33 hod), ^{68}Ga ($t_{1/2}$ 68 min) a ^{177}Lu ($t_{1/2}$ 6,71 dne). Tato potenciální radiofarmaka byla hodnocena in vitro a in vivo. Protilátka IgG M75 a její fragment scFv-Fc M75, připravený genetickou modifikací, byly konjugovány s nekomerčním chelátorem specifickým pro měď tzv. "fosfinátem" (PHS) a následně značeny radionuklidy $^{61,64}\text{Cu}$. Stabilita značeného konjugátu byla testována v lidském séru. Imunoreaktivita značeného konjugátu byla hodnocena in vitro na vhodných buněčných kulturách kolorektálního karcinomu (HT-29) a jeho zobrazovací vlastnosti byly odhadnuty z in vivo experimentů na myším modelu s inokulovaným kolorektálním karcinomem HT-29 zobrazeným na $\mu\text{PET}/\text{CT}$. Testovaný radioimunokonjugát byl získán při specifické aktivitě 0,7 až 0,1 MBq/ μg . In vitro vazné experimenty odhalily specifickou vazbu na buňky HT-29 ($45 \pm 2,8$ % celkové přidané aktivity) a naměřená hodnota KD byla zjištěna 9,2 nM. Zobrazení jednoznačně prokázalo signifikantní distribuci značené monoklonální protilátky v nádoru 18 hodin po aplikaci. Radioimunokonjugát IgG M75-NCS-PHS-Cu-64 se zdá být vhodným kandidátem na PET diagnostiku hypoxických nádorů exprimujících lidskou karboanhydrázu IX. Dále byla konjugována protilátka nimotuzumab s komerčním chelátorem DOTA a nekonvenčním chelátorem DOTAPO, tyto konjugáty byly značeny radionuklidy ^{64}Cu a ^{177}Lu o specifických aktivitách 0,2 a 0,5 MBq/ μg a následně hodnoceny in vitro na buněčných kulturách A431, včetně in vivo zobrazovacích experimentů na $\mu\text{SPECT}/\text{CT}$. Peptid BBN byl konjugován s chelátorem DOTA a značen radionuklidy ^{64}Cu a ^{68}Ga o specifických aktivitách 10 a 0,1 MBq/ μg . Značené konjugáty byly hodnoceny in vitro na buněčných modelech s linií PC-3 a in vivo zobrazovány na $\mu\text{PET}/\text{CT}$.