

Oponentský posudek disertační práce
Mgr. Adam Čepa: „Modifikace fragmentů protilátek, jejich značení
nekonvenčními pozitronovými zářiči a biologické testování pro
diagnostiku PET

Téma předložené disertační práce pokládám za aktuální vzhledem k současnému trendu rozvoje nových radiofarmaceutických přípravků, kde radionuklid je vázán přímo nebo prostřednictvím např. bifunkčního chalátu a linkéru na biomolekulu. Práce je zaměřena na nová radiofarmaka na bázi protilátek, jejich fragmentů a peptidů. Jako radionuklidy pro značení byla použita měď 61 a měď 64, lutecium 177 a galium 68.

V disertační práci biomolekula představuje např. komerční protilátku nimotuzumab, která je konjugovaná s komerčním chelátorem DOTA a nekonvenčním chelátorem DOTAPO. Studována je zde i protilátka IgM75 a její fragment scFv, které jsou konjugované nekomerčním chelátorem fosfinátu. Dosažené výtěžky značení u izotopů mědi jsou uváděny 96 % a radiochemická čistota větší jak 95%. To pokládám za slibné výsledky vzhledem i k stabilitě radiokonjugátů a zanedbatelné ztrátě imunoafinity. Za důležité pokládám i výsledky biodistribučních studií na myších.

. Vývoj radiofarmak pro diagnostické a terapeutické aplikace v léčbě onkologických onemocnění je spojen se studiem jejich chemických, farmaceutických a farmakologických vlastností. Při hodnocení nového radiofarmaceutického přípravku je velmi důležité navržení vhodných metod kontroly jakosti radioaktivně značených protilátek neboť kvalitativní parametry determinují farmakologické vlastnosti studované účinné látky. Kontrola kvality radiofarmaceutických přípravků, je vždy spojena s požadavkem validace analytických metod, který je nezbytný pro získání certifikátů Správné výrobní a laboratorní praxe a pro následné preklinické a klinické hodnocení léčivého přípravku.

Značené biomolekuly, radioimunokonjugáty obsahující radioizotopy mědi 61 a 64 jsou studovány především jako potenciální účinné látky v radiofarmakách pro radioimunodiagnostiku a radioimunoterapii.

Teoretická část disertační práce je přehledně a kvalitně zpracována a dokazuje, že disertant teoretickou část zpracoval interdisciplinárně a na potřebné úrovni a orientuje se v molekulární imunologii, radiofarmacii a chemii protilátek a naznačuje zde nové trendy v nukleární medicíně.

Předmětem disertační práce je i popis vhodných metod pro značení protilátek a provedení biodistribuční studií na tkáňových kulturách a na zdravých myších se studovanými účinnými substancemi.

Experimentální část disertační práce je obsáhlá a zahrnuje velmi podrobný popis všech experimentů. Postrádám zde, jaký typ cyklotronu byl použit k přípravě mědi 61 a 64. V kapitole 5. 8. je uvedeno, že značený konjugát M75-NCS-PHS-64 Cu vykazoval pomocí ELISA imonoafinitu 82 % zatímco pomocí RIA metody byla stanovena hodnota imunoafinity 46 %. Zde by bylo dobré toto doplnit vysvětlením.

V této části se domnívám nebylo potřebné uvádět tak detailně experimentální podmínky a stačilo popřípadě uvést odkaz na doložené publikace. Kapitola výsledky a diskuze je přehledně zpracována a dostatečně ilustruje in vivo a in vitro experimenty. Postrádám zde shrnutí, zda cíle disertační práce uvedené v kapitole 4 byly dosaženy.

V části Výsledky v kapitole 5.12.2. dle mého názoru nekorespondují výsledky biodistribuce na nádorových zvířatech s obrázky 4.12.2.1 a 4.12.2.2. Některé metody kontroly označené protilátkou po jejich další validaci lze navrhnout do budoucna jako standardní operační postupy jejich kontroly.

Jak je patrné z přehledu publikací, uvedených příloze na str. 95 a dále výsledky studia značení fragmentů protilátek nekonvenčními pozitronovými zářiči byly předmětem několika publikací autora disertační práce v časopisech.

K předložené práci nemám mimo již uvedené poznámky další konkrétní připomínky. Z formálního hlediska disertační práci pokládám za dobře zpracovanou, přehlednou a logicky rozčleněnou, ale obsahující řadu zbytečných překlepů.

Závěr.

Téma disertační práce pokládám za aktuální. Teoretická část práce obsahuje kritické zhodnocení vybraných poznatků o značení protilátek a fragmentů nekonvenčními pozitronovými zářiči. Autor disertační práce prezentuje kvalitně a pečlivě zpracovaný experimentální materiál s vyčerpávajícím shrnutím dosažených poznatků. Celková úroveň zpracování práce dokládá, že si Mgr. Adam Čepa osvojil dostatečně metody vědecké práce a předloženou **disertační práci proto doporučuji k obhajobě.**

V Praze 7..12. 2018

Doc. Ing. František Melichar, DrSc