

## OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

**Název práce:** Studium vlastností radioaktivně značených monoklonálních protilátek pro zobrazování v onkologii

**Autor práce:** Mgr. Jiří Janoušek

**Pracoviště:** Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakologie a toxikologie

**Obor:** Farmakologie a toxikologie

**Školitel:** doc. PharmDr. František Trejtnar, CSc.

**Konzultant:** Mgr. Pavel Bárta, PhD.

**Oponent:** Doc. Ing. Alice Lázníčková, CSc.

Předložená disertace zaujímá širší oblast oborů od farmakologie, radiofarmacie a radiochemie až po koordinační chemii. Jejím cílem bylo studovat vliv podmínek značení monoklonálních protilátek potenciálně využitelných v radiodiagnostice onkologických onemocnění vybranými diagnostickými radionuklidy, jednak na radiochemické vlastnosti označených sloučenin, na jejich *in vitro* receptorově specifickou vazebnost, orgánovou distribuci v *ex vivo* experimentech a na kvalitu zobrazení experimentálních nádorů *in vivo*.

Pro tato studia byla vybrána anti-EGFR monoklonální protilátka cetuximab označená jódem-131 pro testování a možnosti aplikace nové metody CTK (Concentration Through Kinetics) pro stanovení vazebnosti značené protilátky na příslušné cílové receptory exprimované na povrchu buněk standardních vlastností. Dále byla použita anti-VEGFR2 protilátka ramucirumab (RAM) označená přímými i nepřímými metodami radiodiagnostickými radionuklidy, techneciem-99m, galiem-67 a zirkonioem-89. U této radioaktivně označené protilátky byly posléze porovnány vazebnostní a biodistribuční parametry v závislosti na způsobu značení.

V úvodní části práce obsahuje detailně zpracovaný přehled současného stavu studované problematiky vývoje radioaktivně značených monoklonálních protilátek pro diagnostické, případně i terapeutické využití v nukleární medicíně a onkologii.

Výsledky práce přinášejí řadu nových informací zejména v oblasti optimalizace metod značení monoklonálních protilátek pomocí galia-64 a poměrně nově využívaného pozitronového zářiče zirkonia-89. V experimentální části autor popisuje detailně jednotlivé metody radioaktivního značení studovaných protilátek, včetně jejich chemické modifikace pro možnost vazby kovových radionuklidů, metody stanovení kvality (ITLC-SG a HPLC analýza) a dále vliv rozdílných metod značení na vlastnosti, zejména imunoreaktivitu vzniklého produktu. Mezi metodické přínosy patří zavedení UV/VIS metod pro stanovení množství chelátorů navázaných na molekulu protilátky a rozšíření CTK analýzy o měření na živých buňkách. Vedle toho byl posouzen i vliv způsobu značení protilátek krátkodobým techneciem-99m na kvalitu produktu. Díky vysoké radiochemické čistotě, vysoké stabilitě a s minimálně ovlivněnou afinitou značeného RAM k příslušnému receptoru bylo možné testovat i biologické vlastnosti značené protilátky *in vitro* a v modelu *in vivo*. Výsledky *in vitro*, *ex vivo* biodistribuce a *in vivo* PET/CT zobrazení na myších modelech lidských nádorů PC3 a SKOV3 exprimujících VEGFR2 receptory potvrdily akumulaci značené protilátky <sup>89</sup>Zr-DFO-RAM v obou typech nádorů.

Výsledky práce byly prezentovány na šestnácti konferencích, z toho na šesti zahraničních, formou posteru nebo přednášky a dále byly zveřejněny ve dvou publikacích s IF

(1,4 a 1,8), na jedné je předkladatel této práce hlavním autorem. Vzhledem k přísnému oponentnímu řízení v daných časopisech se dá předpokládat slušná úroveň publikovaných výsledků, přesto bych ráda uvedla jednu poznámku a vznesla několik dotazů:

1. Pro stanovení radiochemické čistoty označených protilátek, případně jejich modifikovaných forem byly použity správné analytické metody, jednak chromatografie na ITLC-SG (což není papír ale tenká vrstva slisovaných skleněných vláken vyplněných silikagelem) a dále vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Jakým způsobem byla ve značeném vzorku při HPLC analýze stabilizována volná frakce radionuklidu?
2. Mohl byste podat bližší vysvětlení hodnocení vazebnosti  $^{131}\text{I}$ -cetuximabu na příslušné receptory metodou Interaction Map?
3. Při rychlém vývoji RID metod založených na použití značených monoklonálních protilátek v posledních deseti letech by mě zajímalo, jakou výhodu mají tyto struktury oproti značeným peptidům, které byly vyvíjeny ve stejné době díky jejich rychlejší kinetice (menší velikost molekuly) a snadnější, resp. levnější dostupnosti.

Oponovaná disertační práce přináší řadu nových výsledků potenciálně využitelných v molekulární radioimunodiagnostice. Je bez formálních a věcných nedostatků s vyváženým obsahem a je napsaná velmi přehledně a srozumitelně. Autor úspěšně využil řadu náročných experimentálních metod jak při modifikaci a značení vybraných protilátek, tak i u různých biologických modelů, ale i schopnost kritického hodnocení svých výsledků v souvislosti s novými poznatky o struktuře a funkci studovaných receptorů. Z výše uvedených skutečností vyplývá, že předložená práce zcela splňuje náročné podmínky pro udělení hodnosti PhD. Proto doporučuji, aby tato disertační práce byla přijata jako podklad pro další řízení k udělení titulu PhD.

V Hradci Králové 12. srpna 2019

Doc. Ing. Alice Lázníčková, CSc.