

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát: PharmDr. Marie Volková
Školitel: doc. PharmDr. František Trejtnar, CSc.
Název disertační práce: Mechanismy membránového transportu radioaktivně značených receptorově specifických peptidů v ledvinách

Radioaktivně značené receptorově specifické peptidy jsou látky využívané pro diagnostické zobrazování, ale i radioterapii některých nádorů, převážně neuroendokrinního původu. Přes poměrně dynamický vývoj v této skupině radiofarmak v posledním období existuje stále nedostatek relevantních informací o mechanismech determinujících jejich farmakokinetiku, včetně údajů o interakcích radiopeptidů s membránovými transportními systémy. Tyto transportéry mohou být zodpovědné za nežádoucí ledvinnou kumulaci a následné radiotoxické poškození ledvin, které je významným limitem použití radiopeptidů v nukleární medicíně.

Cílem této práce bylo posoudit roli několika transportních mechanismů, které se mohou potenciálně podílet na transmembránovém transportu radiopeptidů v ledvinné tkáni. Studie byla zaměřena na zkoumání úlohy aktivní endocytózy megalinovým systémem, fluidní endocytózy a významných lidských ledvinných SLC transportérů hOAT1 a hOCT2. Současně byl studován potenciální transport vybraných radiometabolitů těchto radiopeptidů uvedenými transportními mechanismy v kontextu s jejich biodistribucí a ledvinnou eliminací *in vivo*. Součástí projektu bylo i pilotní ověření případné interakce radiopeptidů s významnými efluxními transportéry P-glykoproteinem a BCRP.

Ve studii byly zkoumány *in vitro* transportní mechanismy šesti radiopeptidů ze skupiny analogů somatostatinu, gastrinu, bombesinu a dvou modelových metabolitů radiopeptidů - ^{177}Lu -DOTA-DGlu-Ala-Tyr, který je degradačním produktem ^{177}Lu -DOTA-minigastrinu 11, a ^{177}Lu -DOTA-DPhe, který je potenciálním metabolitem somatostatinových derivátů jako je např. ^{177}Lu -DOTA-NOC. S využitím buněčných linií byly pro zkoumání transportních mechanismů provedeny inhibiční studie s ligandy megalinu, inhibitorem fluidní endocytózy rottlerinem, a akumulací studie za nízké teploty. Pro stanovení

role SLC transportérů byly využity akumulační studie s přechodně transfekovanými buňkami se zvýšenou expresí hOAT1 nebo hOCT2. Studie *in vivo* porovnávaly biodistribuční a eliminační parametry dvou parentních radiopeptidů a jejich potenciálních radiometabolitů u potkanů po i.v. aplikaci.

Ligandy megalinového endocytárního receptoru snižovaly významně akumulaci všech studovaných radiopeptidů. Pouze s jedinou výjimkou vedla inkubace s rottlerinem ke koncentračně závislé inhibici buněčné akumulace u všech studovaných intaktních radiopeptidů. Akumulační studie neprokázaly vliv hOCT2 nebo hOAT1 na transport intaktních radiopeptidů. Na rozdíl od metabolitu ^{177}Lu -DOTA-DGlu-Ala-Tyr, který též nevykazoval žádnou interakci s SLC transportéry, v případě ^{177}Lu -DOTA-DPhe byl prokázán *in vitro* uptake pomocí transportéru hOCT2. ^{177}Lu -PCTA-[Lys³]bombesin slabě interagoval s BCRP transportérem, peptidy konjugované s chelátorem DOTA však žádnou interakci s efluxními transportéry nevykazovaly. Farmakokinetika obou studovaných radiometabolitů u potkanů byla charakterizována poměrně rychlou eliminací radioaktivity z krve a organismu s převažující ledvinnou exkrecí. Uptake radiometabolitů v na receptory pozitivních tkáních byl očekávatelně nižší než u intaktních radiopeptidů. Dlouhodobá retence menšího radiometabolitu ^{177}Lu -DOTA-DPhe byla nižší než v případě tripeptidového metabolitu ^{177}Lu -DOTA-DGlu-Ala-Tyr. Ledvinná kumulace radiometabolitu ^{177}Lu -DOTA-DGlu-Ala-Tyr byla srovnatelná s parentním peptidem, kumulace ^{177}Lu -DOTA-DPhe byla ve srovnání s intaktním peptidem ^{177}Lu -DOTA-NOC nižší.

Výsledky práce dokazují rozhodující úlohu aktivních transportních mechanismů při akumulaci všech testovaných intaktních radiopeptidů ve zkoumaných buňkách. Kromě aktivní endocytózy zprostředkované megalinovým systémem se na buněčném uptake může podílet i fluidní endocytóza. Zkoumané SLC transportéry významnou roli v tomto procesu pravděpodobně nemají. Získaná experimentální data přinášejí první údaje o systémové dispozici radiometabolitů receptorově specifických radiopeptidů v organismu a ukazují, že se na ledvinném transportu jejich pokročilých degradačních produktů mohou podílet i SLC transportéry. Naproti tomu výsledky provedených farmakokinetických studií naznačují, že nežádoucí ledvinná akumulace a retence extrarenálních metabolitů může být ve srovnání s parentními radiopeptidy nižší. Získaná experimentální data naznačují negativní korelaci mezi stupněm degradace peptidového řetězce parentního peptidu a ledvinnou retencí radiometabolitu.