

Abstrakt v slovenskom jazyku

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biofyziky a fyzikální chemie

Študent: František Lach

Školiteľ: Mgr. Pavel Bárta, PhD

Konzultant: Mgr. Lucie Hyršová

Názov diplomovej práce: In vitro saturačné štúdie ^{99m}Tc -HYNIC-ramucirumabu na PC-3 bunkách

V posledných rokoch sa zvyšuje počet zhubných nádorov v populácii. Z dôvodu častých vážnych nežiadúcich účinkov chemoterapeutických liečiv na celý organizmus sa do popredia dostáva cieleňá protinádorová terapia. Vďaka svojmu špecifickému účinku na regulačné a signálne dráhy proteínových štruktúr, sú k cieľovej protinádorovej terapii využívané monoklonálne protilátky. Medzi základné vlastnosti rastúceho nádoru patria vaskulogenéza (schopnosť novotvorby ciev z endoteliálnych prekursorov) a angiogenéza (proces vlastnej novotvorby ciev). Medzi endoteliálne progenitory nádoru patri vaskulárny endoteliálny rastový faktor (VEGF). VEGF svoj biologický účinok aktivuje prostredníctvom väzby na svoje transmembránové tyrozínkinázové receptory VEGFR. Práve inhibícia receptorov vaskulárneho endotelového faktoru je cieľom niektorých monoklonálnych protilátok. Ramucirumab je monoklonálna protilátka, ktorá selektívne inhibuje VEGF receptor typu 2 (VEGFR-2) a tým blokuje aktivačné a signalizačné dráhy.

Cieľom predkladanej diplomovej práce bolo zrealizovať nepriame rádioaktívne značenie monoklonálnej protilátky ramucirumab rádiodiagnostickým nuklidom ^{99m}Tc pomocou chelátoru succinimidyl-6-hydrazino-nicotinamidu (HYNIC). U pripraveného rádiofarmaka ^{99m}Tc -HYNIC-ramucirumab sa overila rádiochemická čistota a stabilita po dobu 24 hodín. Rádiochemická čistota a stabilita bola overená pomocou metódy HPLC a iTLC. Rádiofarmakum sa otestovalo aj na biologické vlastnosti, teda zachovanie schopnosti sa viazať na cieľový receptor VEGFR-2 exprimovaného na nádorovej bunkovej línii ľudského prostatického karcinómu. *In vitro* experimenty boli zrealizované pomocou manuálnej saturačnej techniky a automatickej rádioimunoanalytickej metódy s detekciou v reálnom čase. Cieľom bolo zistenie hodnôt rovnovážnej disociačnej konštanty K_D , ktorá určuje afinitu skúmanej látky k cieľovej proteínovej štruktúre.

Výsledkom rádioaktívneho značenia monoklonálnej protilátky ramucirumab bola príprava stabilného rádiofarmaka ^{99m}Tc -HYNIC-ramucirumab, kde jeho pripravené vzorky vykazovali rádiochemickú čistotu vyššiu ako 95 %, čo je požiadavka Európskeho liekopisu pre aplikáciu rádiofarmak pacientom. Ani po 24 hodinách od zrealizovania rádioaktívneho značenia nebola zistená významná prítomnosť voľného technécia, ktorá

by značila nestabilitu rádioaktívne značeného imunokomplexu. V *in vitro* experimentoch bola stanovená rovnovážna disociačná konštanta pre väzbu ^{99m}Tc -HYNIC-ramucirumab na VEGFR-2 v hodnote $K_D = 9,99 \pm 2,06$ nM pre manuálnu saturačnú techniku a $K_D = 1,54 \pm 0,52$ nM pre automatickú radioimunoanalýzu. Získané hodnoty *in vitro* štúdie tak potvrdili zachovanie väzbovej schopnosti rádioaktívne značenej monoklonálnej protilátky k bunkovému VEGFR-2.

Výsledkom predkladanej diplomovej práce je potvrdenie možnosti rádioaktívne značiť monoklonálnu protilátku ramucirumab diagnostickým rádionuklidom ^{99m}Tc cez chelatačné činidlo HYNIC so súčasným zachovaním väzbových schopností pripraveného rádiofarmaka. Pripravený rádioaktívne značený komplex ^{99m}Tc -HYNIC-ramucirumab by sa mohol stať sľubným ligandom pre vizualizáciu VEGFR-2 pozitívnych nádorových ochorení, ak by súčasne obstál aj v *in vivo* testovaní.