

Warszawa 21.08. 2018

Prof. dr hab. med. Leszek Królicki
Zakład Medycyny Nuklearnej
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Instytut Chemii i Techniki Jądrowej

Rada Naukowa

ul. Dorodna 16,
03-195 Warszawa

Recenzja pracy doktorskiej mgr Edyty Cędrowskiej pt. „ Biokoniugaty nanocząstek tlenków metali jako nośniki emiterów cząstek alfa w celowanej terapii radionuklidowej”

Promotor: prof. dr hab. Aleksander Bilewicz

Wprowadzanie nowych procedur leczniczych z zastosowaniem metod radioizotopowych jest obecnie jednym z istotnych osiągnięć w onkologii. Metody te pozwalają na leczenie schorzeń nowotworowych, zwłaszcza w fazie uogólnienia (gdy postępowanie chirurgiczne i radioterapia są zawodne). Metody te charakteryzują się również możliwością wprowadzania do praktyki klinicznej zasad teranostyki.

Z tego względu uważam, że tytuł pracy doktorskiej został wybrany prawidłowo i dotyczy aktualnego stanu wiedzy.

Głównym celem pracy było opracowanie metody trwałego wiązania emitera cząstek alfa (^{225}Ac) oraz radionuklidów pochodnych z wybranymi biomolekułami. Autorka badała możliwość trwałego wiązania ^{225}Ac z nanocząstkami zbudowanymi z tlenków metali, które z kolei mogłyby łączyć się z wybranymi peptydami, spełniającymi rolę wektorów biologicznych.

Praca ma odmienny od typowego układ – autorka wprowadza elementy dyskusji bezpośrednio po prezentacji wyniku. Rozprawa zawiera 130 stron. Autorka cytuje 138 pozycji literaturowych.

W rozdziale „Część literaturowa” autorka przedstawia definicję medycyny nuklearnej i podstawowe odkrycia, które zadecydowały o jej rozwoju i odrębności. Następnie skupia się na definicji pojęcia radiofarmaceutyku. W ostatniej części nawiązuje do zasad celowanej terapii radioizotopowej. Rozdział ten napisany jest poprawnie i nawiązuje do końcowego celu badań rozpoczętych przez kandydatkę – zastosowania proponowanych związków chemicznych, jako radiofarmaceutyków. Następny podrozdział dotyczy struktury nanocząstek i sposobom ich uzyskiwania, a także dotychczasowym sposobom ich zastosowania w medycynie.

Uważam, że wstęp ten pozwala czytelnikowi na zapoznanie się z dziedziną, której dotyczy praca doktorska. Rozdział ten wskazuje również, że kandydatka jest bardzo dobrze przygotowana merytorycznie do podjęcia zaplanowanych badań.

W następnym rozdziale „Cel pracy” kandydatka określiła główne i szczegółowe cele pracy.

Pierwszym celem było opracowanie metody trwałego wiązania emitera cząstek alfa (^{225}Ac) i powstających w wyniku rozpadu radionuklidów pochodnych z nanocząstkami tlenków tytanu i magnetytu.

Drugim celem było opracowanie metod łączenia nanocząstek z wektorami biologicznymi (Substancja P, p-ciało monoklonalne).

Kolejnym celem było określenie właściwości fizyko-chemicznych otrzymanych nanostruktur i wykonanie badań *in vitro* na liniach komórkowych.

Ostatnim celem było określenie biodystrybucji uzyskanych nanocząstek w badaniach *in vivo* i ocena ich gromadzenia się w eksperymentalnym guzie nowotworowym.

Cele pracy zostały sformułowane właściwie i w sposób logiczny.

W „Części doświadczalnej” autorka opisała kolejne procedury laboratoryjne. Opisy są przygotowane w sposób szczegółowy i nie budzą moich zastrzeżeń.

Na podkreślenie zasługuje zastosowanie szeregu nowoczesnych technik dla oceny morfologii uzyskanych nanocząstek. Kandydatka stosowała transmisyjną i skaningową mikroskopię elektronową, technikę dynamicznego rozpraszania światła (Dynamic Light Scattering DLS), analizę termogravimetryczną oraz wysokosprawną chromatografię cieczową i spektrofotometrię.

Autorka szczegółowo opisała procedury oczyszczania przeciwciał monoklonalnych, oznaczania ich stężenia, oddzielania radionuklidów, następnie łączenia nanocząstek z PEG oraz łączenia PEG z peptydami (substancją P lub przeciwciałem monoklonalnym), badania stabilności, przebieg badań *in vitro* na liniach komórkowych. Rozdział ten został opracowany poprawnie, zastosowane metody analityczne nie budzą zastrzeżeń.

Autorka wykazała, że nanocząstki tlenku tytanu wykazują silne właściwości retencyjne i wysokie powinowactwo do trójwartościwych kationów metali – emiterów promieniowania alfa: ^{225}Ac i ^{213}Bi . Zaproponowana modyfikacja procesu silanizacji umożliwia również połączenie z nanocząstką peptydów pełniących rolę wektorów biologicznych. Ograniczeniem w stosowaniu nanocząstek tytanowych jest jednak uwalnianie produktów rozpadu ^{225}Ac : ^{221}Fr i ^{213}Bi . Może to być przyczyną objawów ubocznych, jeśli nanocząstki zastosowane byłyby do podawania choremu.

Wydaje się, że bardziej przydatne będzie zastosowanie nanocząstek magnezytu. Dzięki wbudowaniu ^{225}Ac w strukturę krystaliczną, nanocząstki te są bardziej stabilne, a zastosowana metoda pozwala na trwałe związanie zarówno ^{225}Ac , jak i radionuklidów powstających w wyniku jego rozpadu.

W badaniach *in vitro* wykazano, że zarówno nanocząstki tlenku tytanu, jak i magnezytu znakowane ^{225}Ac , z przyłączonymi cząsteczkami aktywnymi biologicznie, wykazują wielokrotnie większą toksyczność dla komórek nowotworowych w hodowlach komórkowych, w porównaniu do roztworu ^{225}Ac i nanocząstek znakowanych ^{225}Ac , bez wektora biologicznego. Autorka słusznie podkreśla, że wektor biologiczny w sposób celowany łączy komórkę z nanocząstką zawierającą radioizotop.

Autorka nie obserwowała jednak swoistego gromadzenia w wszczepionym guzie SKOV-3 nanocząstek magnezytowych zawierających w swojej strukturze jako wektor biologiczny – trastuzumab. Nanocząstki podane dożylnie zwierzętom doświadczalnym nie gromadziły się selektywnie w tkankach nowotworowych, pomimo związania z nimi wektora biologicznego. Nanocząstki te były szybko usuwane z krążenia, gromadząc się w wątrobie i śledzionie. W celu dalszych poszukiwań odpowiedniego radiofarmaceutyku wskazane jest przedstawienie przez autorkę prawdopodobnych mechanizmów odpowiedzialnych za te zjawiska (gromadzenie w wątrobie i śledzionie oraz brak swoistego gromadzenia w guzie).

Podsumowując, uważam, że rozprawa spełnia kryteria pracy na stopień doktora. Kandydatka sformułowała oryginalny temat badawczy, poprawnie przeprowadziła

badania i przedstawiła logiczne wnioski. Udowodniła, że posiada szeroką wiedzę i umiejętność prowadzenia badań naukowych. Zwracam się z wnioskiem o kontynuowanie przewodu doktorskiego.

Zwracam się z propozycją wyróżnienia rozprawy ze względu na jej nowatorski charakter i możliwość zastosowania w przyszłości uzyskanych wyników w klinice.

