

Ocena pracy doktorskiej mgr farm. Pawła Krzysztofa Halika pt. Otrzymywanie celowanych radiofarmaceutyków bazujących na antagonistach receptora NK-1 do diagnostyki i terapii patologii onkologicznych.

Aktualnie w medycynie- głównie w onkologii- najnowocześniejsze postępowanie w procesie diagnostyczno-lecznym oparte jest idei personalizacji, w której kluczowym elementem jest selekcja pacjentów, u których zastosowane leczenie ma duże szanse powodzenia. Temu służy podejście teranostyczne, w którym diagnostyka ma funkcję dyskryminującą i jako taka służy jako przewodnik leczenia. W medycynie nuklearnej takie podejście stanowi główny nurt, obecny od samego początku tej dziedziny, w której obok rozwoju metod obrazowania, kluczową rolę odgrywa radiofarmacja. Wysoką selektywność i swoistość celowanej terapii radionuklidowej warunkuje staranne zaprojektowanie i uzyskanie radiofarmaceutyku o wysokim powinowactwie do określonego celu molekularnego. Receptor neurokininy 1 (NK1R) charakteryzuje się ograniczonym zakresem występowania, głównie w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym.

Rozprawa doktorska mgr. Pawła Halika oparta jest o cykl 4 prac oryginalnych, pracy przeglądowej i doniesienia zjazdowego o łącznym IF 21.078 i 460 pkt. MNiSW. Doktorant jest pierwszym autorem pracy przeglądowej, komunikatu zjazdowego i dwóch prac oryginalnych (w jednej z nich- drugim i w jednej- trzecim).

Praca doktorska mgr. Pawła Halika liczy 169 stron i podzielona została na 3 zasadnicze części: hipotezy i cele badawcze, część teoretyczna i praktyczną. Zawiera także polsko- i anglojęzyczne streszczenie oraz alfabetyczny spis używanych w tekście skrótów. Dołączono kopie cyklu prac stanowiących podstawę dysertacji. Manuskrypt kończy zestawienie 245 pozycji piśmiennictwa, głównie z ostatnich lat.

W części I Doktorant jasno wprowadza w tematykę badań i precyzuje nadrzędny cel projektu, którym było opracowanie skutecznej metody otrzymywania stabilnych radiofarmaceutyków opartych na antagonistach o wysokim powinowactwie do receptora NK1, przeznaczonych do diagnostyki i terapii nowotworów cechujących się nadekspresją NK1R.

W części II przedstawiono aktualny stan wiedzy dotyczący medycyny nuklearnej i radiofarmacji, ze szczególnym uwzględnieniem celowanej terapii radionuklidowej. Następnie Autor obszernie opisuje podstawy metodologii opracowania idealnego radiofarmaceutyku, od jego projektowania, poprzez wybór wektora i radionuklidu po optymalizację jego finalnej formy. Dalej przedstawia techniki obrazowania molekularnego z użyciem radiofarmaceutyków oraz znaczenie receptora neurokininy 1 w patologii i powód jego wyboru jako celu molekularnego celowanej diagnostyki i terapii nowotworowej. Tę część kończy opis antagonistów NK1R. To teoretyczne

wprowadzenie wskazuje na bardzo dobrą znajomość tematyki badań. Napisana jest językiem zwięzłym i zrozumiałym. Jej lekturę ułatwiają trafnie użyte ilustracje i tabele z najnowszych publikacji.

W części III Doktorant opisuje metody otrzymywania i oceny radiokoniugatów opartych na antagonistach NK1R z dwóch grup: peptydowych (SPANTIDE I oraz SPANTIDE I (5-11)) oraz niepeptydowych (L732,138 i aprepitant). Wszystkie związki opracowano aby umożliwić znakowanie radionuklidami pary teranostycznej $^{68}\text{Ga}/^{177}\text{Lu}$, przy zachowaniu powinowactwa do NK1R, co było następnym etapem projektu. Uzyskane radiokoniugaty poddano badaniu właściwości fizykochemicznych celem określenia ich przydatności do zastosowania w celowanej terapii radionuklidowej. Następnie na komórkowym modelu NK1R-pozytywnym dokonano oceny powinowactwa receptorowego i pojemności wiązania do molekularnego celu wszystkich otrzymanych ^{177}Lu -radiokoniugatów pochodnych L732,138 i aprepitantu. Nie wykazano bezpośredniego wiązania ^{177}Lu -radiokoniugatów peptydomimetyków SPANTIDE I do żadnej z analizowanych linii komórkowych. W celu oceny konkurencyjności otrzymanych radiofarmaceutyków przeprowadzono także badania *in vitro* ^{177}Lu -radiokoniugatu opartego na pochodnej substancji P stosowanej w leczeniu glejaka wielopostaciowego.

Podsumowując wyniki swoich badań Kandydat wnioskuje, że otrzymane radiokoniugaty oparte na peptydowych antagonistach NK1R (SPANTIDE I) wykazują korzystne właściwości fizykochemiczne, co wskazuje na możliwość ich rozważenia jako potencjalne radiofarmaceutyki. Słabe wiązanie się SPANTIDE I z receptorem, podważa użyteczność tych związków w praktyce klinicznej. W Jego ocenie małowiązujący antagonist NK1R L732,138 może być dobrym wektorem radiokoniugatów celowanych, jednak po rozwiązaniu kluczowej kwestii niestabilności *in vivo*. Mając na względzie projektowanie przyszłych radiofarmaceutyków opatych o L732,138, przedstawia sugestie dotyczące kierunków dalszych badań. Ocenia, że najbardziej obiecujące wyniki dotyczą nowo zaprojektowanych serii radiokoniugatów pochodnych aprepitantu, ze względu na szeroki zakres parametru lipofilowości (znacznie wyższy niż w przypadku radiokoniugatów substancji P), przy zachowaniu pełnej stabilności w surowicy krwi ludzkiej. Dodatkowo wykazują korzystniejszą charakterystykę wiązania do celu molekularnego *in vitro* w porównaniu do referencyjnego radiozwiązku pochodnej substancji P, obecnie stosowanej w eksperymentalnej terapii glejaka wielopostaciowego. Doktorant w swojej pracy przedstawił koncepcję projektowania radiofarmaceutyków na drodze wygodnych modyfikacji struktury aprepitantu, w sposób umożliwiający zachowanie powinowactwa receptorowego związku. Opracował koniugaty pochodnych aprepitantu z chelatorem DOTA i zoptymalizował znakowanie koniugatów radionuklidami teranostycznej pary izotopów ^{68}Ga i ^{177}Lu z wysoką wydajnością radiochemiczną i

radioaktywnością molową. Część III zamykają kopie 5 opublikowanych przez mgr. Halika prac stanowiących podstawę jego dysertacji doktorskiej. Opis metod badawczych świadczy o dogłębnej znajomości zagadnienia i perfekcyjnym opanowaniu warsztatu badawczego. Sposób precyzowania wniosków jest dowodem umiejętności krytycznej oceny i zrozumienia znaczenia uzyskanych danych.

W czasie studiowania pracy nasunęły mi się następujące uwagi:

1. Język naukowy, jakkolwiek precyzyjny i używany właściwie, w wielu miejscach mógłby być uproszczony i oparty na określeniach polskich, co ułatwiłoby lekturę (np. w tytule zamiast „patologie onkologiczne” można by użyć określenia „nowotwory”).
2. Zgodnie z przyjętymi zasadami opisywania radionuklidów powinno się stosować cyfrę w indeksie górnym przed symbolem pierwiastka lub przez myślnik- po nim. W niektórych miejscach pracy zapis izotopów nie jest zgodny z tą zasadą.

Reasumując, praca doktorska mgr. Halika ma dobre założenia, wpływające z potrzeb nowoczesnej medycyny spersonalizowanej, dobrze zaplanowana i rzetelnie wykonana, w oparciu o nowoczesną metodykę radiofarmaceutyczną. Jest to nowatorskie opracowanie dotyczące radiokoniugatów opartych na antagonistach receptora neurokininy 1. Wysoką wartość uzyskanych wyników potwierdzają publikacje w renomowanych czasopismach zagranicznych o wysokim współczynniku oddziaływania (*IF*). Szczególne nadzieje na zastosowanie w warunkach klinicznych wzbudzają radiokoniugaty oparte na strukturze aprepitantu co potwierdza nawiązanie współpracy z Zakładem Medycyny Nuklearnej Centralnego Szpitala Klinicznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierownictwem prof. dra hab. Leszka Królickiego, pod kierunkiem którego prowadzona jest eksperymentalna terapia celowana glejaka wielopostaciowego przy użyciu radiofarmaceutyków bazujących na substancji P.

Dysertację doktorską mgr. Pawła Halika oceniam bardzo wysoko. Spełnia ona warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz.U. z 2017r. poz. 1789). Wniosuję o dopuszczenie Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Białystok 25.08.2022r.