

Prof. dr hab. Józef Mieczkowski

Warszawa, dn. 19.11.2018r.

Pracownia Syntezy Nanomateriałów Organicznych i Biomolekuł

Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

mieczkow@chem.uw.edu.pl

RECENZJA

rozprawy mgr Barbary Janoty pt.: „Opracowanie i przygotowanie radiofarmaceutyku HYNIC-Eksendyna-4 agonisty receptora GLP – 1. Badania chemiczne i biologiczne.” przedstawionej Radzie Naukowej Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej celem uzyskania stopnia naukowego doktora nauk chemicznych.

Radiofarmaceutyk jest to związek posiadający w swojej strukturze radioizotop wybranego pierwiastka, na ogół połączony z ligandem organicznym. Ligandami takimi mogą być proste związki organiczne, ale także pochodne peptydowe. Ligandy te są nośnikami radioizotopu i decydują o swoistości wiązania przez receptory. Medycyna nuklearna wykorzystuje promieniowanie, którego źródłem są przemiany przebiegające w jądrach atomów promieniotwórczych. Podanie krótkożyciowego farmaceutyku a następnie odczyt w określonym czasie uwidacznia nam dystrybucję radioizotopu w tkankach, dostarczając informacji o stanie narządów pacjenta. Ten pozornie prosty proces jest niezwykle ważny dla zdiagnozowania przemian chorobowych. Takim przemianom poświęcona jest rozprawa pani mgr Barbary Janoty pt.: „Opracowanie i przygotowanie radiofarmaceutyku HYNIC-Eksendyna-4 agonisty receptora GLP – 1. Badania chemiczne i biologiczne.” wykonana w Narodowym Centrum Badań Jądrowych Ośrodka Radioizotopów POLATOM pod kierunkiem dr hab. inż. Renaty Mikołajczak.

Rozprawa napisana jest w sposób klasyczny i składa się z określenia celu pracy, części literaturowej, badań własnych oraz podsumowania i dyskusji wyników.

Poprzednie doświadczenia doktorantki dotyczące opracowania i wdrożenia do praktyki klinicznej zestawu ^{99m}Te -Tektrotyd pozwoliły na zaproponowanie nowego, oryginalnego zestawu do diagnostyki nowotworów. Doktorantka podjęła się opracowania warunków znakowania, formulacji farmaceutycznej i badań przedklinicznych nowego zestawu do znakowania ^{99m}Te w oparciu o peptyd Eksendynę i jego dwa analogi. Eksendyna-4 jest naturalnym ligandem receptorów GLP-1. Wcześniejsze badania potwierdziły istotną wartość testowanego znacznika ^{99m}Te – $[\text{Lys}^{40}(\text{Ahx HYNIC})]\text{NH}_2$ -Eksendyna-4 w obrazowaniu zmian chorobowych w szczególności u chorych na insulinomę i raka rdzeniastego tarczycy. Do badań wytypowano, oprócz samej Eksendyny, jej analogi, tj. z metioniną w pozycji 14 oraz norleucyną w pozycji metioniny. Dla celów porównawczych podjęto się przetestowania analogów Eksendyny-4 znakowanych ^{68}Ga i ^{111}In . W świetle moich wcześniejszych uwag podjęcie takiej ambitnej i ważnej tematyki badawczej uważam za jak najbardziej uzasadnione i potrzebne.

Bardzo obszerna część literaturowa (244 pozycje) świadczy po pierwsze o trafnym doborze literatury, po drugie o doskonałym rozeznaniu doktorantki we współczesnych trendach doboru radiofarmaceutyków. Opisano więc zwięźle przegląd metod znakowania biomolekuł technetem (^{99m}Tc), galem (^{68}Ga) i indem (^{111}In). Interesującym podrozdziałem w części literaturowej są rozdziały dotyczące peptydów jako ligandów oraz właściwości Eksendyny i jej powinowactwo do receptora GLP-1, co oczywiście nie ujmuje wartości pozostałym rozdziałom. Wiedza doktorantki zaczerpnięta z przeglądu literaturowego a także jej własne wcześniejsze doświadczenia w chemii radiofarmaceutyków pozwoliły doktorantce na zaproponowanie własnych pomysłów badawczych. Badania te wymagały rozwiązania kilku cząstkowych problemów pośrednich:

1. Opracowania warunków znakowania stabilnych kompleksów
 ^{99m}Tc - $[\text{Lys}^{40}(\text{Ahx-HYNIC})\text{NH}_2]$ -Eksendyna-4
 ^{99m}Tc - $[\text{Nle}^{14}, \text{Lys}^{40}(\text{Ahx-HYNIC})\text{NH}_2]$ -Eksendyna-4
 ^{68}Ga - $[\text{Nle}^{14}, \text{Lys}^{40}(\text{Ahx-NODAGA})\text{NH}_2]$ -Eksendyna-4
 ^{111}In - $[\text{Lys}^{40}(\text{Ahx-DTPA})\text{NH}_2]$ -Eksendyna-4
2. Potwierdzenia wartości diagnostycznej ^{99m}Tc - $[\text{Lys}^{40}(\text{Ahx-HYNIC})\text{NH}_2]$ -Eksendyna-4 w badaniach *in vitro* i w badaniach biodystrybucji narządowej u zwierząt doświadczalnych
3. Opracowania formy farmaceutycznej dla preparatu ^{99m}Tc - $[\text{Lys}^{40}(\text{Ahx-HYNIC})\text{NH}_2]$ -Eksendyna-4 w postaci liofilizatu do znakowania, umożliwiającej otrzymanie preparatu znakowanego ^{99m}Tc w warunkach radiofarmacji szpitalnej

4. Zbadania wpływu dodatku przeciwutleniacza L-metioniny na czystość radiochemiczną i farmakokinetykę otrzymanego kompleksu ^{99m}Tc -[Lys⁴⁰(Ahx-HYNIC)NH₂]-Eksendyna-4

W wyniku przeprowadzonych przez doktorantkę badań stwierdzam, co następuje:

1. Opracowane przez doktorantkę zestawy HYNIC-Exn do znakowania technetem- ^{99m}Tc oraz NODAGA-Exn(Nle) do znakowania galem-68 w postaci liofilizatów jednofiolkowych, pozwalają na szybkie i bezpieczne przygotowanie preparatów ^{99m}Tc -HYNIC-Exn, ^{68}Ga -NODAGA-Exn(Nle) z wysoką wydajnością w warunkach szpitalnych.
2. Zastosowanie jednofiolkowego zestawu do otrzymywania preparatu ^{99m}Tc -HYNIC-Exn pozwala na obniżenie kosztów produkcji zestawu, jak również wpływa na łatwiejszą procedurę otrzymania ^{99m}Tc -HYNIC-Exn z liofilizatu.
3. Utlenienie metioniny wpływa na jakość wyznakowanego preparatu. Wprowadzenie do składu zestawu 30 mg L-metioniny znacząco zmniejszyło udział utlenionej formy wyznakowanego peptydu. Trwałość zestawów w postaci liofilizatów po dodaniu 30 mg L-metioniny zwiększyła się z 6 miesięcy do 12 miesięcy
4. Badania biodystrybucji ^{99m}Tc -HYNIC-Exn, ^{99m}Tc -HYNIC-Exn(Nle), ^{99m}Tc -HYNIC-Exn(+L-Met), ^{99m}Tc -HYNIC-Exn[Met(ox)], ^{68}Ga -NODAGA-Exn(Nle), ^{111}In -DTPA-Exn u zdrowych szczurów potwierdziły swoistość gromadzenia w organach wykazujących obecność receptorów GLP-1 tj. płuca, trzustka oraz żołądek. Wartość gromadzenia w płucach zmieniała się zgodnie z kierunkiem ^{68}Ga -NODAGA-Exn(Nle) > ^{99m}Tc -HYNIC-Exn(+L-Met) > ^{111}In -DTPA-Exn > ^{99m}Tc -HYNIC-Exn(Nle) > ^{99m}Tc -HYNIC-Exn > ^{99m}Tc -HYNIC-Exn[Met(ox)]. Brak gromadzenia w innych organach oraz szybkie usuwanie z krwi wskazuje na niskie narażenie

radiacyjne tkanek zdrowych w trakcie zastosowania preparatu.

5. Dla zestawu HYNIC-Exn oraz preparatu ^{99}Tc -HYNIC-Exn doktorantka określiła parametry jakościowe, które preparat powinien spełniać, aby mógł być zastosowany do badań u ludzi.
6. Przydatność radiofarmaceutyku ^{99}Tc -HYNIC-Exn otrzymywanego z opracowanych przez doktorantkę zestawów została potwierdzona w badaniach diagnostycznych u chorych z insulinoma oraz rakiem rdzeniastym tarczycy.
7. Doktorantka ustaliła, że pomimo najwyższego gromadzenia radioaktywności ^{68}Ga -NODAGA-Exn(Nle) w organach wykazujących ekspresję receptorów GLP-1, najwyższe wartości stosunku gromadzenia organ/krew wykazał kompleks ^{99}Tc -HYNIC-Exn(+L-Met). Ten korzystny efekt gromadzenia może wpłynąć na jakość obrazu scyntygraficznego u badanych pacjentów. Wprowadzenie ligandu o wysokim powinowactwie i swoistości do komórek β mogłoby w przyszłości wpłynąć na lepszą diagnostykę chorych z cukrzycą typu 2. Nieinwazyjne obrazowanie komórek β ułatwiłoby wczesną diagnozę choroby, wymaga to jednak dalszych badań.
8. Dzięki wynikom badań doktorantki w klinice Endokrynologii CM UJ w Krakowie przygotowany został wniosek o uruchomienie pilotowego badania u chorych w celu zbadania wartości diagnostycznej kompleksu stabilizowanego L-metioniną ^{99}Tc -HYNIC-Exn(+L-Met).

W zasadzie w tym miejscu recenzji pora na uwagi krytyczne, ale tych praktycznie nie mam. Praca napisana jest poprawną polszczyzną; staranna jest również szata graficzna rozprawy. Przedstawione przez doktorantkę wyniki badań są dobrze udokumentowane, dyskusja wyników prawidłowa. Rozprawa zawiera dużo oryginalnego materiału eksperymentalnego, część wyników już opublikowano w dobrych czasopismach (9 publikacji, 1 patent).

Reasumując moją recenzję stwierdzam, że przedstawiona rozprawa spełnia zarówno zwyczajowe jak i ustawowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim i rekomenduję Radzie Naukowej Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej nadanie pani mgr Barbarze Janocie tytułu doktora nauk chemicznych. Jednocześnie stawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy.

Józef Mieczkowski

