Oponentský posudek na bakalářskou práci Lucie Dobiášové: Značení protilátky cetuximab pomocí Zr-89

Předkládaná bakalářská práce slečny Dobiášové se zaobírá problematikou z oboru radiofarmacie, konkrétně značením protilátky cetuximab radionuklidem Zr-89 a sledováním jeho stability *in-vitro*.

Předkládaná bakalářská práce o celkovém rozsahu 53 stran je členěna klasicky na čtyři hlavní kapitoly: úvod, teoretickou část, experimentální část a závěr. V úvodu autorka připravuje čtenáře na další obsah bakalářské práce rozebráním základních pojmů, dále v něm definuje cíle bakalářské práce a je do něj rovněž včleněn seznam zkratek. V teoretické části o rozsahu 20 stran autorka detailně diskutuje problematiku pozitronové emisní tomografie, pozitronové emisní tomografie s využitím protilátek (tzv. immunoPET), používané radionuklidy v pozitronové emisní tomografii. Velkou část teoretické práce autorka věnuje zirkoniu – konkrétně jeho chemickým vlastnostem, jeho chování *in-vivo*, a detailně rozebírá izotop Zr-89 co do přípravy, separace a chelatace. Teoretická část rovněž rozebírá problematiku využití monoklonálních protilátek v nukleární medicíně. Na závěr teoretické části autorka shrnuje principy metod využívaných v experimentální části. Teoretická část je logicky členěna a poskytuje dostatečný základ pro experimentální část bakalářské práce, nicméně jako lehce matoucí hodnotím zařazení nečíslovaných nadpisů, což mírně ztěžuje orientaci v textu. V experimentální části čítající 24 stran se bakalantka zaměřuje na výrobu a separaci Zr-89, konjugaci cetuximabu s modifikovaným desferrioxaminem jako chelátorem pro Zr-89, značení vzniklého konjugátu cetuximab-desferrioxamin Zr-89 a následnou analýzou značeného konjugátu a jeho stabilitními studiemi *in-vitro*. Jako výsledky jsou zde uvedeny chromatogramy získané z HPLC či záznamy elektroforézní analýzy jak neznačených, tak značených konjugátů cetuximab-desferrioxamin. V závěru autorka shrnuje dosažené výsledky, které korelují se zadáním bakalářské práce. Bakalářská práce je doplněna seznamem citované literatury, která obsahuje celkově 49 zdrojů, z nichž se v drtivé většině jedná o recentní impaktované publikace.

V bakalářské práci se vyskytuje jen několik drobných stylistických či gramatických chyb. Jako mírnou komplikaci pro čtenáře hodnotím občasnou absenci použití celého výrazu při jeho prvním výskytu v textu doplněného uvedením jeho zkratky do závorky namísto prostého použití jeho zkratky již při prvním výskytu, přestože je tato zkratka uvedena v seznamu zkratek. Nicméně tento problém se v práci vyskytuje v minimálním množství případů. Celkově tedy nic nebrání úplnému pochopení textu.

K faktické stránce bakalářské práce mám pár poznámek:

- V tabulce 2.1 na str. 35 uvádíte navážky cetuximabu a desferrioxaminu pro syntézu konjugátů se stanovenými molárními poměry. Z uvedených informací nezbývá čtenáři než

Vám věřit, že navážky jsou skutečně správně. Ocenil bych buď uvedení molárních hmotností jednotlivých složek v práci pro jednodušší kontrolu nebo standardní zápis pro práce věnující se chemické syntéze, kde bývá vždy kromě navážky uvedeno i molární množství jednotlivých reaktantů vstupujících do reakce.

- Při analýze produktů s pomocí HPLC jste využívala UV/VIS a radio detektoru. Po srovnání chromatogramů měly analyty různé retenční časy při UV/VIS a radio detekci, což dělá popis složitější pro orientaci čtenáře a složitější i pro autora textu. Do budoucna bych doporučil srovnat délku trasy k jednotlivým detektorům, situace bude mnohem přehlednější.
- Na str. 40 při popisu chromatogramu na obrázku 2.5 odečítáte retenční čas konjugátu cetuximab-desferrioxamin jako 6,27 minuty, přestože všechny ostatní časy odečítáte na jedno desetinné místo. Navíc v dalším textu se vyskytuje retenční čas 6,3 minuty. Dále se v tom samém odstavci vyskytuje odečtený retenční čas 5,5 minuty, nicméně v diskuzi se odkazujete na retenční čas 5,6 minuty. Předpokládám, že se jedná o chyby, které vznikly při postupných úpravách textu, nicméně působí matouce.

Dále mám na bakalantku několik otázek:

- Na str. 25 mluvíte o dávkování cetuximabu v souvislosti s inhibicí epidermálního růstového faktoru za účelem redukce proliferace buněk. V souvislosti s tímto dávkováním se vyskytuje ve Vašem textu jednotka mg/m^2. Je to dosti neobvyklá jednotka pro dávkování léčivých přípravků. Mohla byste její význam, prosím, osvětlit?
- Z uvedených materiálů na str. 33 není úplně zřejmé, jak jste se dostala k desferrioxaminnu jako chelátoru. Byl syntetizován v rámci experimentálních prací či byl zakoupen?
- Na základě čeho byl vybrán konjugát s molárním poměrem cetuximabu a desferrioxaminu 1:20? Z publikovaných experimentálních výsledků nevyplývá konjugát s tímto molárním poměrem jako jednoznačně nejlepší. Dokonce u vzorku s molárním poměrem 1:10 je koncentrace cetuximabu v konjugátu mnohem vyšší.
- Z jakého důvodu nebylo nadále pracováno s konjugáty značenými aktivitami 1,08 a 3,43 MBq? Proč klesá koncentrace cetuximabu ve značeném konjugátu s rostoucí aktivitou?
- Co značí negativní pík, který se vyskytuje ve všech chromatogramech s UV/VIS detekcí? Při popisu chromatogramů s radiodetekcí připisujete pík s retenčním časem 6 minut „agregátu protilátky“. Myslíte tím agregát samotné protilátky nebo protilátky kongjugované s desferrioxaminem?
- Hlavní pík chromatogramu získaného s radiodetektorem s retenčním časem 7,5 minuty ve všech případech chvostuje. Při analýze po 24 h od značení je v případě použití vyšších

aktivit Zr-89 dokonce vidět druhý pík, jehož existence ani chvostování hlavního píku nebylo v práci diskutováno. Máte pro to nějaké vysvětlení?

Závěrem konstatuji, že předložená práce splňuje všechny náležitosti a požadavky kladené na bakalářskou práci, proto ji doporučuji k obhajobě. Po zodpovězení výše uvedených otázek hodnotím známkou **A - výborně**.

V Praze 17. 08. 2021 Ing. Lukáš Ondrák

BŘEHOVÁ 7
115 19 PRAHA 1
ČESKÁ REPUBLIKA

+420 224 358 274
EMAIL@FJFI.CVUT.CZ
WWW.FJFI.CVUT.CZ

IČ 68407700 | DIČ CZ68407700
BANKOVNÍ SPOJENÍ KB PRAHA 6
Č. Ú. 19-5373100277/0100