

ZÁRÓ BESZÁMOLÓ:

Egyre több bizonyíték támasztja alá specifikus, nagy affinitású Luteinizáló Hormon-Releasing Hormon (LHRH/GnRH) receptorok expresszióját humán daganatokban. Citotoxikus gyógyszermolekulákkal, illetve radioaktív izotópokkal konjugált LHRH analógok képesek kötődni a humán daganat sejteken található LHRH receptorokhoz, mely a célzott kemo- és radioterápia, valamint a molekuláris képalkotó diagnosztika alapját képezheti.

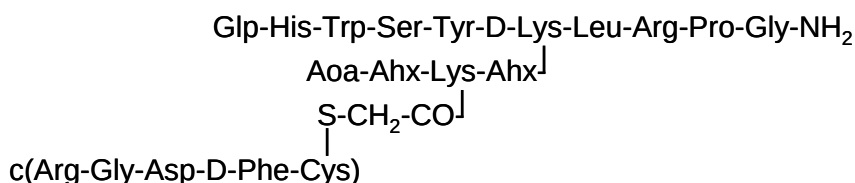
A jelen pályázatunk célja volt az LHRH receptorok tumorbiológiai és funkcionális jelentőségének vizsgálata elsősorban humán rosszindulatú daganatokban (emlő, ovárium, prosztata, hólyag és vese carcinoma ill. humán uveális melanoma), valamint annak tanulmányozása, hogy radioaktívan jelzett LHRH analógok alkalmasak-e ezen daganatok in vivo diagnosztikai célú felhasználására. Munkánk során az LHRH receptorok mRNS-szintű expresszióját vizsgáltuk, valamint ezen receptor fehérjék lokalizációját és kötési tulajdonságait is tanulmányoztuk humán tumor mintákon és humán daganat sejtvonalakon. A pozitron emissziós tomográfiás (PET) vizsgálatokhoz egy LHRH analóg és annak angiogenesis szelektív markereivel konjugált, valamint [^{18}F] izotóppal jelölt származékait immunszuppresszált (nude) egerekben növesztett és LHRH receptort expresszáló humán daganatokon teszteltük.

Az elért eredmények rövid ismertetése:

I. Peptid prekursorok szintézise. A ^{18}F -ral történő radioaktív jelölésre alkalmas LHRH analógok előállítása. Heterodimer peptidok szintézise, melyek egy LHRH analógot és egy angiogenesis markert is (RGD vagy NGR peptidok) tartalmaznak.

Az monomer és heterodimer LHRH analógok előállításához szükséges ^{18}F -izotóp jelölés kidolgozása. ^{18}F -izotóp jelölés automatizálása és méretnövelése.

A PET technikában alkalmazható ^{18}F -tartalmú konjugátumok elkészítésére 4-fluorbenzaldehydet alkalmazunk, amelyet oxim-ligációs módszerrel lehet aminosavval módosított peptidhez kapcsolni. A nem kívánt mellékreakciók elkerülése érdekében módszert dolgoztunk ki arra, hogy a szabad aminosav-csoportot megvédjük a szükséges felhasználásig. A módszer hatékonyságát egy szomatostatin analógon mutattuk be, amelyet sikeresen kapcsolunk a 4-fluorbenzaldehyddel. (kapcsolódó publikációnk: Mező G et al. J Pept Sci 17:39-46, 2011.) A továbbiakban olyan bifunkciós peptidkonjugátumot készítettünk, amely két különböző receptort ismer fel (LHRH receptor és integrin receptor), ezáltal növelve a ^{18}F -tartalmú vegyület kötődési hatékonyságát tumorsejtekhez. Ennek érdekében előállítottuk egy LHRH-I származék és egy ciklikus RGD peptid konjugátumát (ld. ábra). A két, szilárdfázisú szintézissel előállított komponenst tioéter-kötéssel kapcsolunk egymáshoz, és az összekötő részhez egy aminosav-csoportot is kapcsolunk, amely a 4-fluorbenzaldehyddel való oximképzésre alkalmas.



A ciklikus RGD peptid helyén ki akajuk próbálni a ciklikus NGR típusú peptideket is, hogy vizsgáljuk, ez a változtatás mennyire befolyásolja a vegyület kötődő képességét. A CD13 és az integrin receptorok túltermelődnek a neovaszkularizáció helyén a tumorokban. Az NGR szekvenciát tartalmazó peptidek a CD13, míg szukcinimid gyűrűn keresztül keletkező deamidált, izoDGR motívumot tartalmazó vegyületek az integrin receptorhoz kötődnek. Ezért fontos az NGR peptidek stabilitásának vizsgálata, mielőtt jelző anyagot tartalmazó konjugátumokba építjük. (kapcsolódó publikációnk: Mező G et al. J Pept Sci 18: S178-179, 2012.) Munkánk során elkészítettük az irodalomból ismert ciklusos [KNGRE]-NH₂ (1) (amidkötésű ciklus) és Ac-[CNGRC]-NH₂ (2) (diszulfidhidat tartalmazó ciklus) ciklopeptideket, továbbá különböző ciklusméretű tioéterkötést tartalmazó ciklopeptideket ([CH₂CO-NGRC]-NH₂ (3), [CH₂CH₂CO-NGRC]-NH₂ (4), [CH₂CO-NGRhC]-NH₂ (5) (hC = homocisztein), [CH₂CO-KNGRC]-NH₂ (6) és [CH₂CO-PNGRC]-NH₂ (7). Megállapítottuk, hogy hűtőben tároláskor és tiszta vízben nem alakulnak át az anyagok. Az oldat pH-jának, ionkoncentrációjának és hőmérsékletének emelésével az anyagok átalakulása gyorsabb. NMR spektroszkópia segítségével megállapítottuk, hogy az Asn oldalláncának közelsége az Asn-Gly amidkötéshez kritikus a szukcinimid gyűrű kialakulásában, továbbá ha ezen amidkötés hidrogénje hidrogénhid kölcsönhatást tud kialakítani, akkor az lassítja a bomlást. Ennek alapján a következő stabilitási sorrend adható meg: (3) < (6) < (5) < (6) < (4) < (2) < (1). (a kapcsolatos cikk benyújtásra kész a J. Med. Chem. folyóirathoz) Fontos kérdésként vizsgáljuk azt, hogy a stabil NGR ciklopeptidekkel képzett konjugátumok alkalmasabbak-e a tumor megjelenítésére, vagy pedig a bomlékony származékok, amelyek mind a CD13, mind az integrin receptorokhoz kötődve erősebb jelet adhatnak. Megállapítottuk továbbá, hogy ha a lamprey LHRH-III (Glp-His-Trp-Ser-His-Asp-Trp-Lys-Pro-Gly-NH₂) 4-es pozíciójában lévő Ser-t az oldalláncában rövid szénláncú zsírsavval acilezett lizint kapcsolunk, akkor az sokkal jobban kötődik az LHRH receptorokhoz. Emellett növekedik a molekula enzimestabilitása és sejtfelvétele, így lokalizációja a tumorsejtekben. A vegyületek közül a vajsavat tartalmazó konjugátum bizonyult összességében a legjobb vegyületnek hatóanyag és izotóp jelzett származékok (a 8-as helyzetű lizin oldalláncához kapcsolva) előállítására. Ez mind a tumor diagnosztika, mind a hatóanyag célbajuttatása szempontjából előnyösen kihasználható. (kapcsolódó publikációnk: Hegedüs R et al. Eur J Med Chem 56: 155-165, 2012.)

A radio ligandumok kifejlesztését minden esetben inaktív konjugációs kísérletek végrehajtásával kezdtük. Ezek során alakítottuk ki a megfelelő analitikai módszereket, illetve fontos volt a termék izolálására is. Az elkészített standardokat, melyek tisztasága minden esetben nagyobb volt 90%-nál, használjuk fel hígítási sor elkészítésére a receptor-kötési vizsgálatokban, a specifikus aktivitás meghatározásához szükséges kalibrálási sornál, illetve a radioszintézisek során a termék azonosítására belső standardként. Általános módszerként 4 mg peptidet feloldottunk 500 µl 75%-os metanolban és 1,1 ekvivalens 4-fluorobenzaldehidet adtunk hozzá, valamint annyi TFA-t, hogy oldatban mért végső koncentrációja 0,04%-os legyen. A reakcióelegyet 60°C-on egy órán keresztül kevertettük, majd szobahőmérsékletre lehűlés után vízzel ötszörösére hígítottuk és szemipreparatív PR-HPLC-vel Liofilizálás után ismételtelen ellenőriztük a tisztaságukat, Maldi-TOF tömegspektrométeren ellenőriztük a szerkezetet (2,5 dihidroxibenzoészav mátrixon). Jelenleg három származék előállításával

készültünk el, a monofunkcionális LHRH, RGD és a heterobifunkcionális LHRH-RGD analóggal. A radioszintézisek kiindulási vegyületét - 4-formil-N,N,N-trimetilanilinium triflát - elkészítettük. Ezt a vegyületet a kereskedelemben megvásárolható 4-N,N-dimetilaminobenzaldehydből gyártottuk, metil triflát segítségével vízmentes diklórmétánban (DCM) (szobahőmérséklet, 12 óra). Tisztítása átkristályosítással történt DCM/dietiléter (Et₂O) elegyből. A fehér kristályok szerkezetének azonosítására ¹H-NMR-t használtunk. Az általunk választott szintézismódszer előnye, hogy optimalizálás után a 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehyd termelése jó hatásfokkal működik, és szilárd fázisú extrakció (SPE) is elégséges a köztitermék tisztítására

A ¹⁸F⁻ radionuklid előállítása az ¹⁸O(p,n)¹⁸F magreakció felhasználásával történt. A célanyag legalább 95% dúsítási fokú [¹⁸O]víz. A besugárzott ¹⁸F⁻ iont tartalmazó vizet – nagy tisztaságú hélium gáz segítségével az ólomárnyékolt szintézis fülkében lévő, a GE cég által gyártott, TRACERLAB FX FDG szintézisegységen elhelyezett anioncserélő oszlopon vezettük keresztül. A gyantán megkötött aktív fluor K[¹⁸F]F formában került a reakcióedénybe, az oszlop eluáló-eleggyel (amely tartalmazza a fázistranszfer katalizátor - Kriptofix 2.2.2. - acetonitriles oldatát is) történő átmosását követően. Ez a technika elősegíti, hogy a fluor vízmentes szerves oldószerben is szolvatálva legyen. Az aromás nukleofil szubsztitúció alapfeltétele, hogy a ¹⁸F⁻ kizárólag aprotikus, poláris oldószer molekulákkal legyen körbevéve a megfelelő reakciósebesség eléréséhez. A vízmentesség biztosításához először 105°C-on és csökkentett nyomáson a vizes oldatot szárazra pároltuk. A vízmentes radioaktív fluorid ionhoz adagoltuk a prekursor molekulát szintén abszolút oldószerben. A szintézisek megvalósításához általában a következő körülményeket használtuk: 3-4 mg prekursor 1 ml DMSO-ban, 110°C és 10 perc (bomláskorrigált kitermelés kb. 25%). A reakció végeztével a keveréket lehűtöttük, vízzel felhígítottuk és a 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehydet Strata C18U SPE oszlopon megkötöttük. Az oszlopot vízzel mosattuk, végül a terméket 0.9 ml metanol segítségével nyertük vissza – és vezettük a ketteszámú reaktorba. Az intermediér tisztítása során cél az el nem reagált fluorid és a prekursor feleslegének eltávolítása.

A peptidek radiokonjugációs szintézise során 1,5 μmol peptidet feloldottunk 100 μl vízben (amely 0,5% TFA-t is tartalmazott), és ezt az oldatot előzetesen bemértük a ketteszámú reaktorba. A szintézisprogram megírásakor külön figyelmet fordítottunk, hogy a reaktorban levő holtterefogatot átöblítsük inert gázzal. A szintézisegység megfelelő programozása biztosítja, hogy a reaktorban a peptidoldat keveredjen a 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehyd alkoholos oldatával. A reakciót 60°C-on 20 percig hagytuk folyni, majd csökkentett nyomáson bepároltuk az elegyet. A HPLC-s tisztítás kezdeti eluens-összetételének megfelelő oldatban újraoldottuk a keveréket, és RP-HPLC-n tisztítottuk a radiojelölt peptidünket. A HPLC-s oszlopon a radioaktivitás valós-idejű vándorlását Scansys PET SCAN oszlopscanner-rel követtük nyomon. Az elválasztáshoz lineáris gradiens elúciós programot használtunk, acetonitril/0,1%TFA és víz/0,1%TFA eluensekkel. A HPLC-ről lenyert, tisztított frakciót a SPE (OASIS HLB) oszlopra való immobilizálás előtt vízzel hígítottuk. Erre a műveletre azért volt szükség, hogy a készítményt megszabadítsuk az élő szervezetre káros oldószermaradékoktól. Az oszlop vízzel történő mosása után az aktivitás visszanyerését 72 %-os EtOH oldattal valósítottuk meg, amelyeket 1 ml-es frakciója tartalmazta a radiojelölt

vegyület aktivitásának nagy részét. Fontos kiemelni, hogy a különböző szekvenciák különböző hozamokat produkáltak, míg az RGD szekvencia alkalmazása során a benzaldehid aktivitásának több mint 60%-a a termékben volt megtalálható, addig a heterodimer származék esetében ez átlagban 25-30% volt csupán. A radioligandumok felhasználáshoz az oldatok alkohol-tartalmát izotóniás sóoldattal 10% alá csökkentettük. A készítményt RP-HPLC-vel (analitikai) ellenőriztük radiodetektor és UV detektor segítségével. Utóbbin meghatároztuk az anyagmennyiséget, amely paraméter nélkülözhetetlen a specifikus aktivitás meghatározásához (az értékek 10-30 GBq/ μ mol között változtak a kiindulási aktivitás függvényében). Egy ismételt HPLC-s futtatás során a radioaktív anyagból és a referenciavegyület törzsoldatából együtt injektálunk, ez a vizsgálat a kémiai azonosítást szolgálta. (csatolt posztereink: Kertész I et al. 18th WCAO Crete, Greece, 2013.; Rózsa D és mtsai. MOT XXX. Pécs, 2013. ill. benyújtás előtt áll ebből 2 közleményünk Kertész et al. Peptides 2014. ; Rozsa et al. Oncotarget 2014.)

II. LHRH receptorok, mint molekuláris targetek tanulmányozása humán daganatokban

Kutatási terveink alapján humán daganatminták gyűjtését (többek között vese, hólyag, uveális melanóma, prosztata, BPH) sikerült megvalósítanunk és az összegyűjtött szövetminták LHRH receptor vizsgálatát elvégeznünk. Humán daganat sejtvonalak kiválasztására és karakterizálására is sor került, melyek receptor mRNS és protein expresszió vizsgálatok alapján, LHRH receptor pozitivitást mutattak. Ezek alapján elsősorban a következő humán LHRH receptor pozitív daganat sejtvonalakkal folytattuk kísérleteinket *in vitro* és *in vivo*: LNCaP humán prosztata karcinóma, OCM-3 humán uveális melanóma, MCF-7 humán emlő karcinóma, OVCAR-3 humán ovárium karcinóma és HT-1376, J82, RT-4 és HT-1197 humán hólyag karcinóma sejtvonalak. Radioreceptor assay segítségével kimutattuk többek között, hogy a vizsgált humán hólyag daganat modellek expresszálnak nagy affinitású (Kd: 4.2-8.5 nM) és 260-658 fmol/mg membrán protein közötti koncentrációjú specifikus LHRH receptorokat, mely receptor fehérje jelenlétét Western blot (WB) analízissel is megerősítettük. Emellett igazoltuk mind mRNS (RT-PCR), mind fehérje (WB, immunhisztokémia, IHC, ligand kötés) szinten, hogy az LHRH receptor az OCM-3, MCF-7, OVCAR-3 és LNCaP humán daganat modelleken kifejeződik. Az OCM-3 humán uveális melanóma sejtvonalon az LHRH receptorhoz köthető jelátviteli és génexpressziós változásokról is új ismereteket szereztünk. Az LHRH receptor génje a 4-es kromoszómán (4q21.2) helyezkedik el és eredményeink alapján a 4-es kromoszóma megoszlásának mértéke független az LHRH receptor expressziójától. In vitro igazoltuk továbbá, hogy az uveális melanómában található LHRH receptor alkalmas rajta keresztül ható célzott terápiás szerek és izotóppal jelzett LHRH vegyületek hatásának és internalizációjának közvetítésére. (kapcsolódó publikációink: Schally AV, Halmos G: Targeting to peptide receptors, Drug Delivery in Oncology. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 1219-1263, 2012. -könyvfejezet ; Szepeshazi K et al. Oncotarget 3:686-699, 2012.; csatolt posztereink: Oláh G és mtsai. MKOT VII. Bp, 2012. ; Sipos É és mtsai. MOT XXX. Pécs, 2013. véglegesítés alatt lévő publikációnk Sipos E et al. Oncology Report 2014.) A Debreceni Egyetem Szemklinikáján eltávolított 39 uveális melanómából elsőként mutattuk ki az LHRH receptor expresszióját (46%) mRNS szinten az irodalomban korábban közölt, valamint saját tervezésű primer párokkal. Az LHRH receptor fehérje

jelenlétét WB, IHC és radio receptor assay-vel igazoltuk. Normál uveában nem detektáltunk LHRH receptor expressziót. (kapcsolódó publikációink: Steiber Z et al. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 52: 6021, 2011. ; Treszl A et al. Oncotarget 4:(10) 1721-1728, 2013.) Hasonló módon elsőként sikerült kimutatnunk LHRH receptor transzkript variánsok jelenlétét humán prosztata karcinóma és benignus prosztata hiperplázia szövetmintákban valamint gyermekkori neurogén tumorokban. (kapcsolódó publikációink: Schally AV, Halmos G: Targeting to peptide receptors, Drug Delivery in Oncology. Wiley-VCH 1219-1263, 2012. -könyvfejezet ; Kiss C et al. Pediatric Blood & Cancer 57(5) 783-783, 2011. ; Rózsa B et al. Prostate. 71(5) 445-52, 2011.) Továbbá a Debreceni Egyetem Urológiai Klinikájáról származó 49 műtétiileg eltávolított humán vesedaganat mintán (RCC, világossejtes vesecarcinoma) valamint 24 húgyhólyagdaganat mintán (TCC, carcinoma transitiocellulare) sikerült kimutatnunk, hogy a vesedaganatok közel 84 %-a expresszálja az LHRH receptort, míg a hólyagdaganatok 79 %-a szintén pozitív az LHRH receptorra nézve, mely RT-PCR eredményeinket IHC módszerrel is megerősítettük. (csatolt poszttereink: Kiss L és mtsai. MKOT VII. Bp 2012. ; Kiss L és mtsai. MOT XXX. Pécs, 2013. ; benyújtásra előkészített közleményünk Kiss L et al. Int.J.Oncology 2014.) Emellett a tervezett új vegyületeink (RGD vagy NGR peptidek) angiogenezis témaköréhez kapcsolódóan is végeztünk kísérleteket valamint real-time qPCR array segítségével vizsgáltuk meg az angiogenezissel összefüggő 94 gén expresszióját, melyek munkánk további folytatásában is jelentősek. (kapcsolódó publikációink: Schally AV, Halmos G: Targeting to peptide receptors, Drug Delivery in Oncology. Wiley-VCH 1219-1263, 2012. -könyvfejezet ; Klukovits et al. Cancer 118:(3) 670-680, 2012. ; csatolt poszterünk: Treszl A et al. 18th WCAO, Crete, Greece, 2013.)

III. A PET vizsgálatokhoz kifejlesztett új radioligandok karakterizálása és vizsgálata *in vitro* és *in vivo*.

A szintetizált analógok receptor kötési affinitását LHRH receptor pozitív humán daganat sejteken radio receptor assay módszer felhasználásával ún. kiszorításos vagy „displacement” analízissel határoztuk meg. A kapott IC₅₀ (nM) értékek alapján (1.13 – 9.75 nM) eredmények azt mutatják, hogy az általunk szintetizált vegyületek LHRH receptor pozitív human prosztata, emlő, ovárium, uveális melanoma, vese és hólyag daganat sejteken nagy affinitással és specifikusan kötődnek ill. a PET vizsgálatokhoz szükséges ¹⁸F-ral történő jelzés nem okoz számottevő receptor kötési affinitás veszteséget a vegyületeknél. Továbbá *in vitro* vizsgálatokat végeztünk a ¹⁸F-jelzett LHRH analóggal annak érdekében, hogy milyen kísérleti körülmények között/mellett (inkubációs körülmények, inkubációs idő, alkalmazott izotóp koncentráció, kötőcső típusa, mosás és elválasztás módja, nem specifikus kötés csökkentése, assay optimalizálása stb.) tudunk a ¹⁸F-jelzett LHRH analógunkkal LHRH receptor mediált internalizációt és daganat sejteken/sejtekben kimutatható dúsulást igazolni. A sikeres optimalizációk után eredményeink szerint a receptor negatív sejtek (OCM-1) igen alacsony mennyiségű radiotraceret kötöttek meg, viszont az LHRH receptor pozitív sejtvonalak (pl. MCF-7, OCM-3) jelentős mennyiségű traceret vettek fel. (csatolt poszttereink: Kertész I et al. 18th WCAO Crete, Greece, 2013.; Rózsa D és mtsai. MOT XXX. Pécs, 2013. ill. benyújtás előtt áll ebből 2 közleményünk Kertész et al. Peptides 2014. ; Rózsa et al. Oncotarget 2014.)

Pályázatunk utolsó munkafázisában elvégeztük a PET vizsgálatokhoz kifejlesztett új monomer és heterodimer radioligandok LHRH receptort expresszáló, humán daganat sejtvonallal transzplantált immunszuppresszált nu/nu egerek PET vizsgálatát. A tumor modell létrehozásához a 7-10 hetes egerekbe 1×10^6 db sejtet injektáltunk szubkután a combok v. hát területére. Az LNCaP prosztata daganat sejteket hím, az MCF-7 (emlő) és OVCAR-3 (ovarium) eredetű daganatokat nőstény állatokba oltottuk, az uvealis melanoma sejtvonalakat (OCM-1 és OCM-3) mindkét nembe. Amikor a tumorok elérték a kb. $8 \times 8 \times 8$ mm-es méretet, azokat további állatokba transzplantáltuk. A miniPET vizsgálatok során a radiotraceret a farokvénába injektáltuk, kb. 100 μ Ci mennyiségben. Az első vizsgálatok során az állatokról 90 perces dinamikus felvételeket készítettünk, majd meghatároztuk azt az időpontot, ahol a tumorok leginkább elkülönültek a többi szövetből. A továbbiakban ettől az időponttól végeztünk 10-10 perces statikus gyűjtéseket. A beavatkozások során az állatokat 1,5-3% izofluránnal altattuk. A PET gyűjtéseket követően az adatokat feldolgoztuk, a 3D rekonstrukciót a DE Nukleáris Medicina Intézet által fejlesztett BrainCAD 1.16 szoftverével végeztük. Amennyiben a felvételeken egyértelműen el tudtuk különíteni a tumorokat, ezeken VOI („volume of interest”) - kat jelöltünk ki legalább 3 párhuzamos szeleten, majd kiszámítottuk a térfogatelem SUV („standard uptake value”) értékét. A SUV értéke matematikailag egy arányszám, melyet úgy képzünk, hogy az adott időpontban és adott térfogatban mért szöveti radioaktivitás koncentrációt osztjuk az injektált dózis és testtömeg hányadosával.

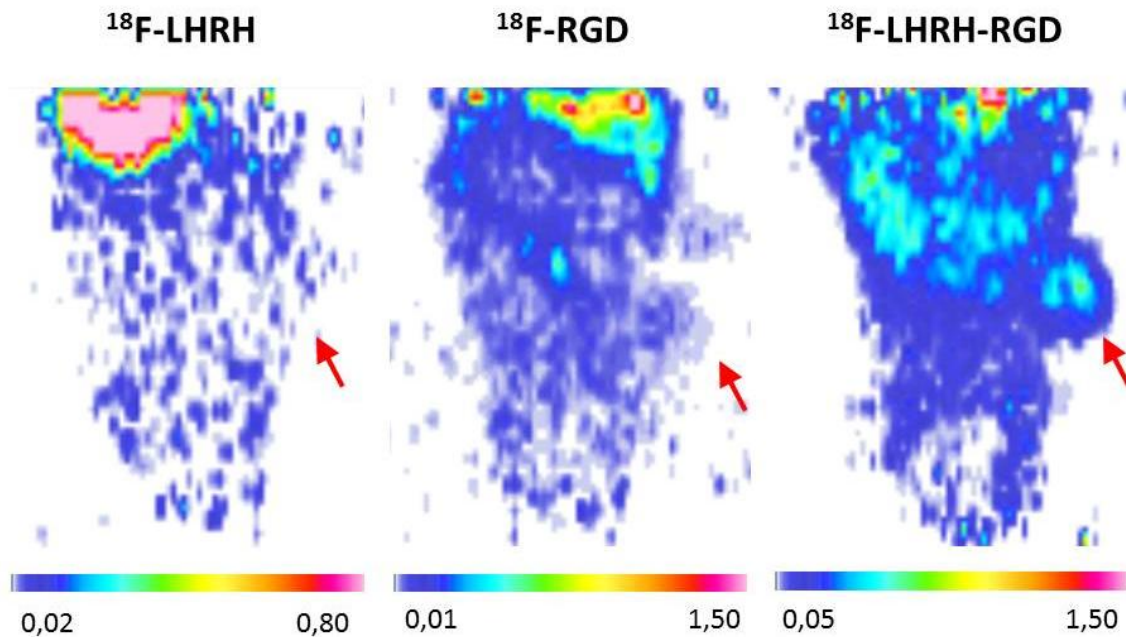
Az *in vivo* PET vizsgálatok során a következőket állapítottuk meg:

A ^{18}F -LHRH radio tracer elsősorban a máj-epe-bél úton ürül az állatokból. A dinamikus vizsgálatok kezdetétől láttunk aspecifikus jelet ezekben a szervekben, ill. a vesében. A tumorok jelölése többnyire gyengébb jelet adott, a tumor területéről származó jel gyakran összemosódott más szervek (máj, belek) aspecifikus jelölődésével, a tumorok elkülönítése a háttértől ezért nehezebb volt. A dinamikus vizsgálatok szerint a tracer lassan ürült az állatokból, ennek oka feltehetően az, hogy az állatok a vizsgálatok során altatásban voltak, az anyagcseréjük így lelassult. A mérésekre a beadást követő 80-90. perc tűnt optimálisnak. Néhány esetben végeztünk vizsgálatot a 170. perctől is, azonban nem kaptunk sokkal tisztább eredményeket.

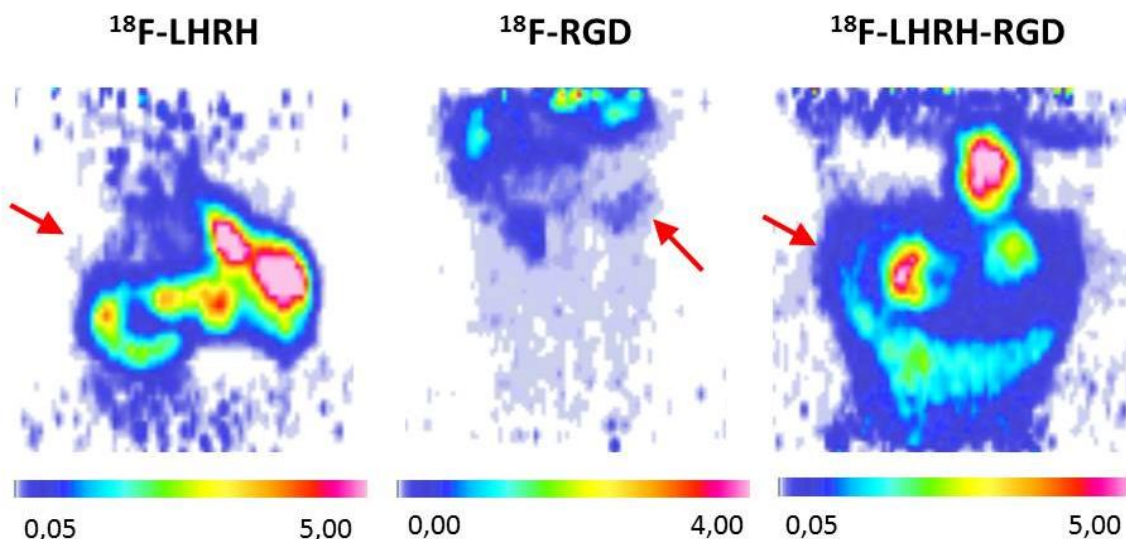
A ^{18}F -RGD molekula elsősorban a veséken keresztül távozott az állatokból már a dinamikus vizsgálatok kezdetétől. Az általunk vizsgált időintervallumban (0-180 perc) bár a háttér jelölődése csökkent, nem szűnt meg. A molekula a tumorban neoangiogenezissel keletkező erek integrinjeihez kötődve teszi lehetővé daganatok detektálását. Sajnos esetünkben a vizsgált tumor modellek gyenge felvételt mutattak. Aspecifikus jelek kisebb mértékben voltak megfigyelhetők, mint a ^{18}F -LHRH radiotracer esetében.

Az előző két molekulából képzett heterodimer radio tracerrel (^{18}F -LHRH-RGD) végzett vizsgálataink szerint a molekula szintén elsősorban a vesén keresztül ürül. Kutató munkánk ezen részének legértékesebb és legígéretesebb eredménye, hogy a tumorok vizualizációja ezzel a heterodimer radio tracerrel sikeresen megvalósítható volt. LHRH receptor pozitív tumor modellek esetén (LNCaP, MCF-7, OCM-3, OVCAR-3) a miniPET

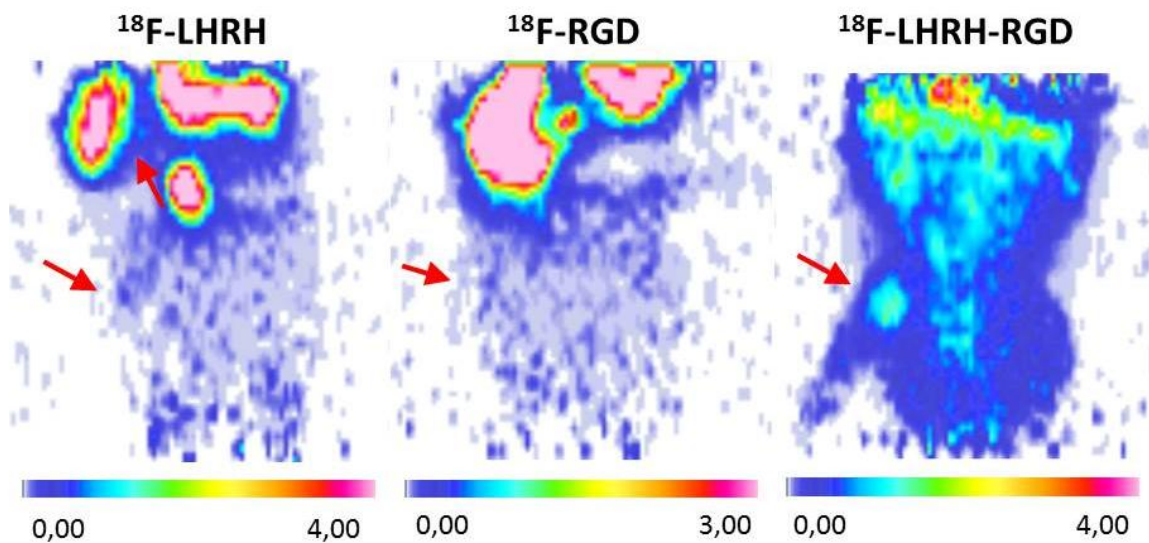
vizsgálatainkban meggyőzően egyértelmű jelet kaptunk, míg LHRH receptor negatív tumor modell esetén (OCM-1) a tumor nem jelölődött. (erről véglegesítés és benyújtás előtt álló közleményünk: Rozsa et al. Oncotarget 2014.)



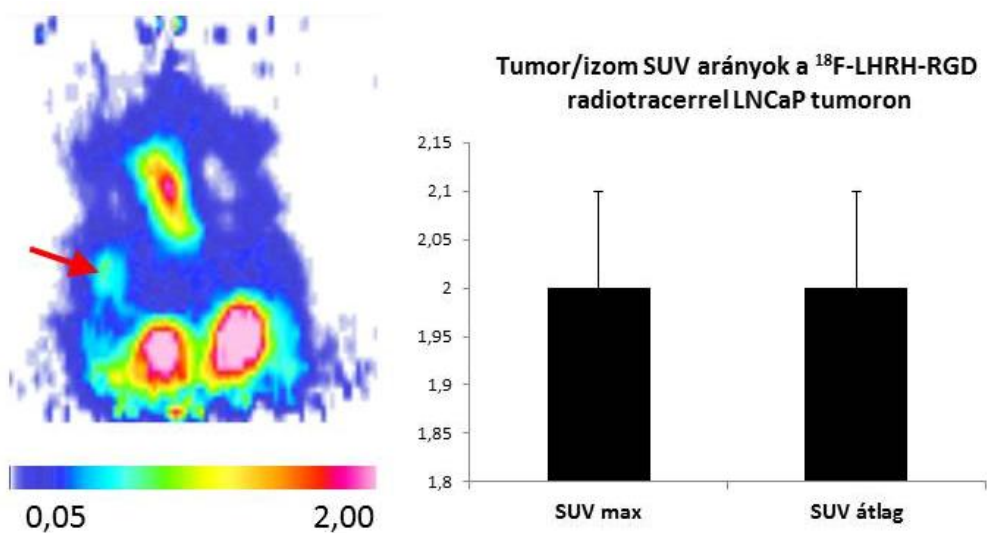
1. ábra Immunszupresszált nu/nu egerekbe ültetett LHRH receptor pozitív OCM-3 tumorok miniPET vizsgálatainak reprezentáns eredménye a különböző radio tracerekkel. A tracerek típusa a felvételek felett, a SUV-skála alattuk látható. Koronalis felvételek a beadást követő 170.-től 180. percig; a tumor helyét nyíl jelöli.



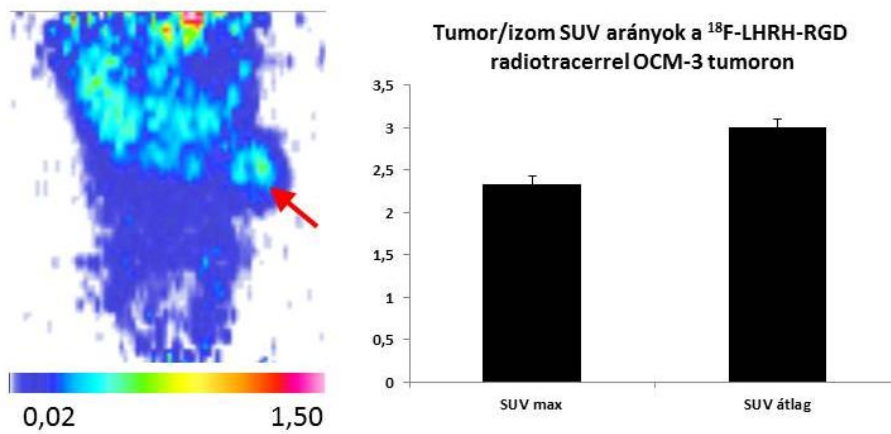
2. ábra. Immunszupresszált nu/nu egerekbe ültetett LHRH receptor pozitív LNCaP tumorok miniPET vizsgálatainak reprezentáns eredménye a különböző radio tracerekkel. A tracerek típusa a felvételek felett, a SUV-skála alattuk látható. Koronalis felvételek a beadást követő 80.-tól 90. percig; a tumor helyét nyíl jelöli.



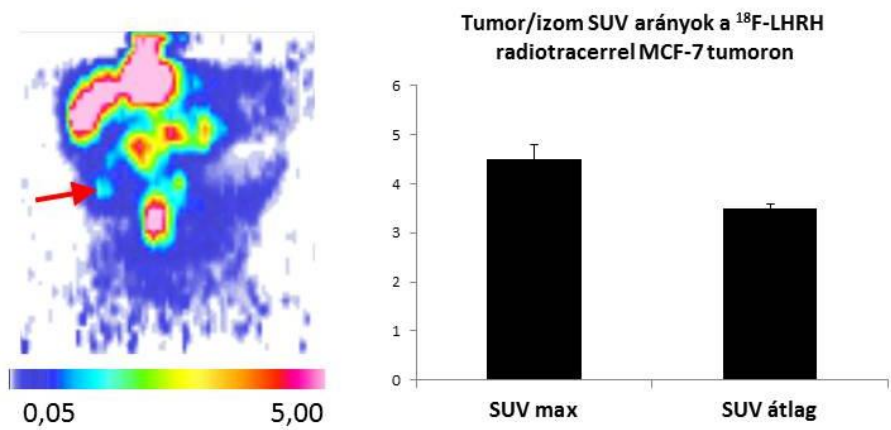
3. ábra. Immunszupresszált nu/nu egerekbe ültetett LHRH receptor pozitív MCF-7 tumorok miniPET vizsgálatainak reprezentáns eredménye a különböző radiotracerekkel. A tracerek típusa a felvételek felett, a SUV-skála alattuk látható. Koronalis felvételek a beadást követő 80.-tól 90. percig; a tumor helyét nyíl jelöli.



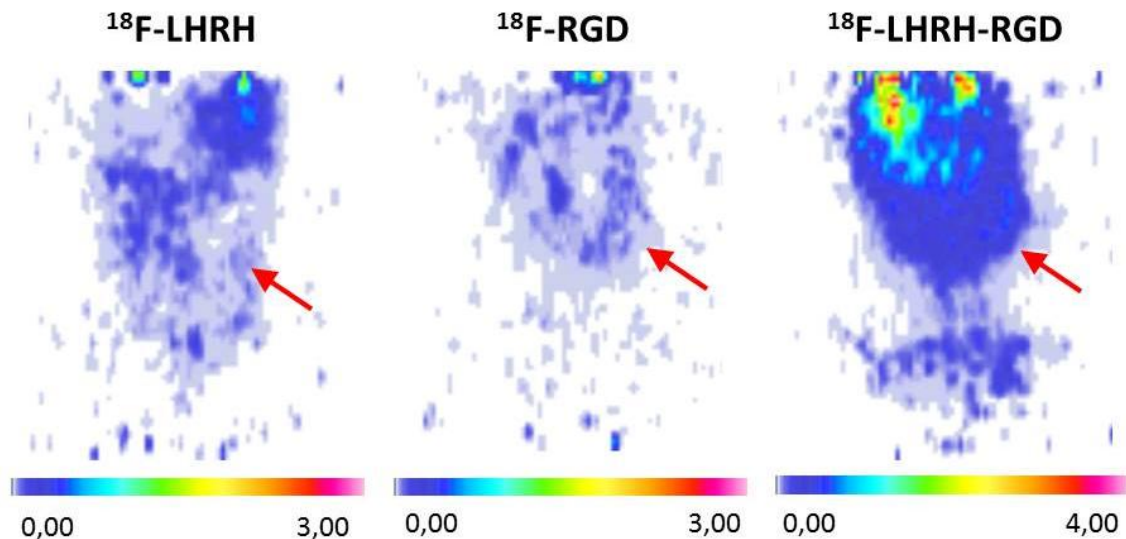
4. ábra. LNCaP tumorról készített felvétel az ^{18}F -LHRH-RGD radiotracerrel. A grafikon a legnagyobb és átlagos SUV értékek tumor/izom arányát ábrázolja.



5. ábra. OCM-3 tumorról készített felvétel az ^{18}F -LHRH-RGD radiotracerrel. A grafikon a legnagyobb és átlagos SUV értékek tumor/izom arányát ábrázolja.



6. MCF-7 tumorról készített felvétel az ^{18}F -LHRH radiotracerrel a beadás utáni 80-90. percben. Jól látható az állat beleiben a kiürülő molekula. A grafikon a legnagyobb és átlagos SUV értékek tumor/izom arányát ábrázolja.



7. Immunszupresszált nu/nu egerekbe ültetett LHRH receptor negatív OCM-1 tumorról készített reprezentáns miniPET felvétel a radiotraccerekkal a beadás utáni 80-90. percben.
Egyik tracerrel sem látni semmilyen halmozódást a tumor területén.

Összefoglalva, az OTKA pályázat támogatásával elvégzett kutatásaink és az abból kapott új eredményeink egyértelműen hozzájárulhatnak a humán tumorok molekuláris szintű felderítéséhez, a rosszindulatú daganatok újszerű PET diagnosztikájához és a célzott daganatterápia hatékonyabb megvalósításához a daganatokban expresszáldó LHRH receptorokon keresztül.

OTKA pályázatunk kutatási eredményeiről eddig már számos hazai és nemzetközi kongresszuson számoltunk be előadások és poszterek formájában, emellett ezidáig megjelent 9 angol nyelvű referált közleményünkben és egy angol nyelvű könyvfejezetben számoltunk be. További 4 angol nyelvű közleményünk zömében az utolsó pályázati időszak munkájáról közvetlen benyújtás vagy véglegesítés előtt áll. Ezek közül az OTKA pályázatunkhoz tartozó közlésre előkészített angol nyelvű közlemények elfogadása után kerül benyújtásra Kiss Lili nappali PhD hallgató doktori disszertációja, mely az OTKA pályázatban foglalt munka egy részén alapul és a pályázat támogatásával jöhetett létre. Továbbá jelen pályázatunk tudományos eredményei és közleményei a vezető kutató (Halmos Gábor) rövidesen ezévben benyújtandó MTA doktori disszertációjának is szerves részét képezik.