

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Презиме, име једног родитеља и име	Марија Салтир Арев	22.09.2021
Датум и место рођења	27.11.1984, Штип, Република Северна Македонија	06 8993
Основне студије		
Универзитет	Универзитет „Св. Кирил и Методиј“, Скопје, Република Северна Македонија	
Факултет	Фармацеутски факултет, Скопје	
Студијски програм	Фармација	
Звање	Магистар фармације	
Година уписа	2003/2004	
Година завршетка	2008	
Просечна оцена	8,35	

Мастер студије, магистарске студије

Универзитет	
Факултет	
Студијски програм	
Звање	
Година уписа	
Година завршетка	
Просечна оцена	
Научна област	
Наслов завршног рада	

Докторске студије

Универзитет	Универзитет у Нишу
Факултет	Медицински факултет
Студијски програм	Фармацеутске науке
Година уписа	2019/2020
Остварен број ЕСПБ бодова	144 ЕСПБ
Просечна оцена	9,86

НАСЛОВ ТЕМЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов теме докторске дисертације	Формулација и физичко-хемијска карактеризација лиофилизованих и радиообележених имунокоњугата трастузумаба
Име и презиме ментора, звање	др Предраг Џодић, доцент
Број и датум добијања сагласности за тему докторске дисертације	8/19-01-002/21-006 09.02.2021

ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Број страна	156
Број поглавља	7
Број слика (шема, графикона)	61
Број табела	50
Број прилога	/

**ПРИКАЗ НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КАНДИДАТА
који садрже резултате истраживања у оквиру докторске дисертације**

Р. бр.	Аутор-и, наслов, часопис, година, број волумена, странице	Категорија
1	<p>M. Sterjova, P. Džodić, T. Ruskovska, P. Apostolova, M. Risteski, E. Janevik-Ivanovska, Preparation and integrity examination of freeze dried kit of trastuzumab-immunoconjugates and cold labeled immunoconjugates by applying SDS-PAGE electrophoresis. Acta Medica Medianae (2019), 58(3): 15-23.</p> <p><i>Кратак опис садржине (до 100 речи)</i></p> <p>Трастузумаб је хуманизовано моноклонско антитело које се користи у терапији HER2 позитивног карцинома дојке. Извршена је коњугација трастузумаба хелаторима р-SCN-Bn-DTPA, р-SCN-Bn-DOTA и р-SCN-Bn-1B4M-DTPA, у циљу његовог даљег обележавања радиоизотопима. Имунокоњугати су лиофилизовани применом дводневног протокола у циљу добијања стабилних лиофилизованих китова. “Хладно обележавање“ нерадиоактивним Лутецијум (III) хлоридом и Итријум (III) хлоридом је извршено да би се уочиле могуће модификације секундарне структуре након радиоактивног обележавања. SDS-PAGE електрофореза у редукујућим условима је коришћена за утврђивање интегритета антитела пре и после коњугације, лиофилизације и обележавања. Није уочена деградација имунокоњугата, који, као и нерадиоактивно обележене формулације електрофорезом на гелу дају две траке (~50kDa и ~25kDa), као и IgG1 антитела и немодификовани трастузумаб.</p>	M51
2	<p>M. Sterjova, P. Džodić, P. Makreski, J. Živković, E. Janevik-Ivanovska, Electrophoresis and Raman spectroscopy characterization of integrity and secondary structure of p-SCN-Bn-DTPA- and p-SCN-Bn-1B4M-DTPA-conjugated trastuzumab. Farmacia (2019); 67(4): 621-626. IF: 1.507</p> <p><i>Кратак опис садржине (до 100 речи)</i></p> <p>Коњугати трастузумаба са бифункционалним хелаторима (BFC), намењени за даље радиообележавање, након чега би имали примену у дијагностици и терапији HER2 позитивних карцинома дојке, представљају значајан напредак у области радиофармације. Циљ ове студије је испитивање интегритета и секундарне структуре антитела у облику лиофилизованих коњугата са р-SCN-Bn-DTPA (молски однос протеин:хелатор је 1:10 и 1:50) и р-SCN-Bn-1B4M-DTPA (молски однос протеин:хелатор је 1:10 и 1:50) применом SDS-PAGE електрофорезе и Раман спектроскопије.</p> <p>Електрофорезом на гелу уочавају се две траке које показују присуство амидних веза карактеристичних за α-хеликсе и β-раван структуре протеина. Ови резултати указују на стабилност секундарне структуре антитела, што је предуслов за даље радиоактивно обележавање лиофилизованих имунокоњугата.</p>	M23
3	<p>M. Sterjova, P. Džodić, P. Makreski, A. Duatti, M. Risteski, E. Janevik-Ivanovska. Vibrational spectroscopy as a tool for examination to the secondary structure of metal-labeled trastuzumab immunoconjugates. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry 2019; 320(1): 209-218, IF=1.181.</p> <p><i>Кратак опис садржине (до 100 речи)</i></p> <p>Спектроскопске методе (ИР и Раман спектроскопија) су се у раду користиле за испитивање могућих конформационих промена у антителу након коњугације са</p>	M22

бифункционалним хелатором, након лиофилизације и нерадиоактивног обележавања. Минималне разлике у ИР и Раман спектру имунокоњугата (промене интензитета и одсуство само појединих пикова ниског интензитета), у поређењу са нативним трастузумабом указују да су се у структури протеина догодиле безначајне промене као резултат везивање хелатора и метала, које неће имати утицај на његову функцију.

Такође, присуство карактеристичних амидних веза потврдило је мишљење да су лиофилизоване формулације у потпуности задржале структуру антитела и да се због тога могу користити за ефикасно радиообележавање радиоизотопима ^{177}Lu и ^{90}Y .

НАПОМЕНА: уколико је кандидат објавио више од 3 рада, додати нове редове у овај део документа

ИСПУЊЕНОСТ УСЛОВА ЗА ОДБРАНУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Кандидат испуњава услове за оцену и одбрану докторске дисертације који су предвиђени Законом о високом образовању, Статутом Универзитета и Статутом Факултета.

ДА НЕ

На основу изнетих чињеница, Комисија је утврдила да кандидат испуњава услове за оцену и одбрану докторске дисертације који су предвиђени Законом о високом образовању, Статутом Универзитета и Статутом Факултета.

ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Кратак опис појединих делова дисертације (до 500 речи)

Наслов рада је прецизан, разумљив и јасно формулисан. У потпуности указује на садржај рада.

У уводу је приказан теоријски осврт на проучавану проблематику. Написан је систематично, јасно и концизно, указујући на комплексност проблематике докторске дисертације. Ради свеобухватног сагледавања предмета истраживања, увод започиње описивањем HER2 позитивног карцинома дојке (укључујући тирозин киназе и HER2 рецепторе), затим структуре антитела и моноклонских антитела, и њихове улоге у терапији канцера. Аутор даје посебан осврт на коришћено антитело трастузумаб, као и на хелаторе и радиоизотопе. Надаље се наводе процеси лиофилизације и методе које се користе за физичко-хемијску карактеризацију имунокоњугата. Уводни део рада пружа целокупни приказ савремених знања уско везаних са спроведеним истраживањем.

У следећем поглављу су утврђени циљеви истраживања.

Основни циљеви истраживања су:

- Изолација трастузумаба из комерцијалног препарата Herceptin® применом методе ултрафилтрације (филтер Amicon® Ultra-4, 30 кДа и 0,1 М PBS пуфер, pH=8);

- Коњугација трастузумаба са хелаторима применом различитих молских односа трастузумаба и хелатора (коришћена концентрација антитела била је 10 mg/mL, док су три хелатора – p-SCN-Bn-DTPA, p-SCN-Bn-1B4M-DTPA, p-SCN-Bn-DOTA коришћена у молским односима протеин:хелатор 1:10; 1:20; 1:50);

- Лиофилизација свих коњугата;

- Обележавање лиофилизованих коњугата нерадиоактивним лутецијумом и итријумом;

- Одређивање стабилности имунокоњугата пре и након обележавања нерадиоактивним лутецијумом и итријумом применом течне хроматографије под високим притиском, и детекцијом у ултраљубичастој области спектра (HPLC-UV);

- Испитивање и карактеризација обележених имунокоњугата ради утврђивања секундарне структуре антитела и евентуалне промене њихове нативне структуре помоћу натријум додецил сулфат-полиакриламид гел електрофорезе (SDS-PAGE - sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis), Инфрацрвене спектроскопије (ИЦ), Раман спектроскопије, Масене спектроскопије (MALDI-TOF - matrix-assisted laser desorption/ionization- time-of-flight mass spectrometer);

- Обележавање лиофилизованих коњугата радиоактивним лутецијумом-177 (^{177}Lu) и итријумом-90 (^{90}Y) и одређивање приноса обележавања и стабилности радиообележених имунокоњугата испитивањем њихове радиохемијске чистоће након одређеног периода инкубације, применом Инстант танкослојне хроматографије (ITLC - Instant Thin Layer Chromatography).

Циљеви су јасно постављени и реално формулисани и почивају на литературним основама.

Детаљно су описани методолошки поступци коришћени при изради дисертације. Материјал и методе рада одговарају принципима методологије научноистраживачког рада у Фармацеутској хемији и Радиофармацији.

Резултати приказани и интерпретирани уз примену савремене статистичке анализе који произилазе из примењене методологије, прегледно су обрађени. Приказани су логичким редом, јасно и систематично

уз концизне описе и тумачења у тексту.

У поглављу Дискусија су детаљно анализирани добијени резултати спроведене студије и упоређени са резултатима других аутора. Стил писања је јасан, прецизан и разумљив. Дискусија добијених резултата приказана је систематично уз адекватну анализу, научно утемељена, исцрпна уз критички осврт на актуелну литературу. Цитиране референце су актуелне, критички одабране и знатно доприносе објашњењу проблематике докторске дисертације.

Наведени закључци су реално приказани и изведени из добијених резултата и дискусије. Логично су изведени из резултата добијених истраживањем, произлазе из добро постављених циљева и примењене адекватне методологије, реални су и прегледно изнесени.

Литература коришћена у изради дисертације приказана је кроз 200 библиографских наслова релевантних за испитивану тематику.

ВРЕДНОВАЊЕ РЕЗУЛТАТА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ниво остваривања постављених циљева из пријаве докторске дисертације *(до 200 речи)*

Докторска дисертација кандидата Марија Арев под насловом: „Формулација и физичко-хемијска карактеризација лиофилизованих и радиообележених имунокоњугата трастузумаба“, израђена је према савременим принципима научно-истраживачког рада и представља актуелан и научно заснован рад. Предложени циљеви су адекватно постављени, а коришћењем најсавременије методологије добијени су корисни и применљиви резултати. Докторска дисертација кандидата представља оригинални научни рад из области Фармацеутске хемије и Радиофармације, са јасним прегледом важности добијања стабилних лиофилизованих имунокоњугата трастузумаба који се могу користити за даље радиообележавање.

Вредновање значаја и научног доприноса резултата дисертације *(до 200 речи)*

У студији су изведени следећи закључци у вези формулације лиофилизованих коњугата трастузумаба са различитим хелаторима у различитим молским односима и радиоактивно обележеним:

1. MALDI-TOF-ом доказана је успешна коњугација одговарајућег броја хелатора по молекулу антитета, чиме је омогућено касније радиообележавање и добијање стабилног радиоимунокоњугата;
2. Процес лиофилизације не утиче на структуру и стабилност коњугата, што сугерише да је предложени метод лиофилизације одговарајући за развој чврстих формулација радиофармацеутика заснованих на трастузумабу. Резултати електрофорезе и минималне разлике у IR и раманским спектрима имунокоњугата у поређењу са нативним трастузумабом, доказују да су након коњугације, лиофилизације и нерадиоактивног обележавања настале промене без значаја на структуру протеина. Такође, због присуства карактеристичних амидних трака претпостављено је да ће лиофилизоване формулације у потпуности задржати примарну анти-HER2 активност трастузумаба, што је предуслов за њихово обележавање радиоизотопима ^{177}Lu и ^{90}Y у циљу даље терапијске примене.
3. Леофилизовани имунокоњугати успешно су радиообележени ^{177}Lu и ^{90}Y уз висок принос радиообележавања. Радиообележена антитета су стабилна након 72 сата од радиообележавања.

Оцена самосталности научног рада кандидата *(до 100 речи)*

Кандидат је показао способност за конципирање истраживања, адекватно коришћење методологије рада и литературе, као и способност за интерпретацију добијених резултата.



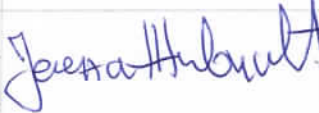

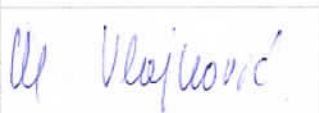
ЗАКЉУЧАК *(до 100 речи)*

Због свега наведеног, Комисија предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета, Универзитета у Нишу да усвоји позитивну оцену израђене докторске дисертације и одобри докторанту Марија Арев, јавну одбрану.

КОМИСИЈА

Број одлуке ННВ о именовану Комисије 06-Ф-43/19-10-7880-3

Датум именовања Комисије 17.9.2021 НСВ Број 8/19-01-007/21-005

Р. бр.	Име и презиме, звање		Потпис
1.	Проф. др Бојан Марковић, ванредни професор	председник	
	УНО Фармацеутско-медицинска хемија и структурна анализа (Научна област)	Фармацеутски факултет, Универзитет у Београду (Установа у којој је запослен)	
2.	Доц. др Предраг Цодић, доцент	ментор, члан	
	УНО Фармација (Научна област)	Медицински факултет, Универзитет у Нишу (Установа у којој је запослен)	
3.	Доц. др Јелена Живковић, доцент	члан	
	УНО Хемија (Научна област)	Медицински факултет, Универзитет у Нишу (Установа у којој је запослен)	
4.	др Сања Врањеш-Ђурић, научни саветник	члан	
	НО Хемија-радиохемија (Научна област)	Институт за нуклеарне науке Винча, Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду (Установа у којој је запослен)	
5.	Проф. др Марина Влајковић, редовни професор	члан	
	УНО Нуклеарна медицина (Научна област)	Медицински факултет, Универзитет у Нишу (Установа у којој је запослен)	

Датум и место:

Ниш,