

Nanorészecskék alkalmazása a nukleáris medicinában

Doktori tézisek

Polyák András

Semmelweis Egyetem

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kellermayer Miklós egyetemi tanár, az MTA doktora

Hivatalos bírálók: Dr. Tekes Kornélia egyetemi tanár, PhD
Dr. Lengyel Zsolt orvos igazgató, PhD

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Szilvási István egyetemi tanár, PhD
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Dabasi Gabriella egyetemi docens, PhD
Dr. Környei József egyetemi docens, PhD

Budapest
2013.

Összefoglalás

A nukleáris medicinában a radiokolloidok egyik legfontosabb alkalmazási területe a különböző primer daganatok ún. őrszem nyirokcsomókra történő áttétképződésének kimutatása. Az értekezés egy részének ilyen limfoszcintigráfiai vizsgálatok vannak a középpontjában: vizsgálatainkban 128 emlődaganatban szenvedő páciens limfoszcintigráfiai eredményeit hasonlítjuk össze intraoperatív gammadetektálási és kékfestéses módszerrel történő nyirokcsomó-azonosítási vizsgálatok adataival, illetve 24 spontán tumoros kutya eredményeivel. Az injektált ^{99m}Tc -mal jelzett Senti-Scint[®] nanokolloid a korábban alkalmazott készítményeknél viszonylag nagyobb méretű, 100 és 600 nm közötti HSA részecskékből állt. Eredményeink igazolták, hogy az őrszem nyirokcsomó azonosításában kulcsfontosságú szerepe van a radiokolloid megfelelő részecskeméret-eloszlásának. Az eredményeink igazolták továbbá, hogy a kitapintásos és kékfestéses technikák a (gamma-kamerás és az intraoperatív gamma-szondás) radioizotópos módszerekkel együttesen alkalmazva teszik lehetővé a lehető legpontosabb őrszem nyirokcsomó detektálást.

Az értekezésben a széles körben alkalmazott citosztatikum, a doxorubicin különböző részecskeméretű, HSA alapú nano- és mikrorészecskébe való megkötését is bemutattuk. A részecskéket a preparálás után ^{99m}Tc -mal jeleztük meg, majd nyomonkísértük a három különböző részecskeméretű ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmény doxorubicin-megkötő hatásfokát, részecskeméret-állandóságát és radiokémiai stabilitását. A vizsgálatokkal igazoltuk a készítmények in vitro és in vivo stabilitását. A különböző részecskeméretű hordozók alkalmazásával ilyen módon különböző, célzottabb terápiás

módszerek érhetőek el amellet, hogy lehetőség nyílik a doxorubicin mellékhatásait, kardiotoxicitását is csökkenteni.

Ezeken felül a dolgozatban új, folát-receptort célzó, önrendeződéssel létrejövő, ^{99m}Tc -jelzett nanorészecskék első alkalommal történő SPECT és SPECT/CT alkalmazását is bemutatjuk. Kísérleteink során a ^{99m}Tc -BBS-NP nanorendszer elsőként jeleztük meg ^{99m}Tc -mal, majd folát receptort kifejező HeDe tumor-sejtvonal segítségével igazoltuk, hogy a készítmény specifikus tumor-halmozódását, és bemutattuk az első biológiai (SPECT) alkalmazását spontán eredetű tumorban szenvedő kutya vizsgálatán keresztül. A vizsgálatok során bizonyítottuk, hogy a kontrasztanyag egyértelműen magasabb halmozást mutat a célzott daganatokban, a részecskék tehát alkalmasnak bizonyulnak folát-receptort kifejező tumorok érzékeny és szelektív azonosítására.

Az eredményekkel összességében igazoltuk, hogy a megfelelő részecskeméret megválasztásának és megalkotásának kulcsfontosságú jelentősége van őrszem nyirokcsomó vizsgálatára alkalmazott radiokolloidok és általában a diagnosztikai vagy terápiás célzatú nano- vagy mikrorészecskék, teranosztikumok tervezésében. Emellett humán vizsgálatokkal párhuzamos, azokat modellező spontán beteg állatok vizsgálatain keresztül igazoltuk a társállatok onkológiai kutatásokban való alkalmazásának összehasonlító kórtani jelentőségét mind már meglévő diagnosztikai módszerek (az őrszem nyirokcsomó kutatása), mind teljesen új eljárások fejlesztésénél. Az eredményekkel mindezekon felül igazoltuk, hogy a nukleáris medicina képalkotó módszerei fontos segítői új típusú, nanotechnológiával készült gyógyszerek (teranosztikumok, célzott hatóanyag-bevitelben alkalmazott hordozó részecskék) fejlesztésének is azok nyomonkövetési, minőség-ellenőrző vizsgálataiban.

Célkitűzések

Célunk volt teljesen új diagnosztikai radiofarmakon-jelölt készítmények előállítására, és célul tűztük ki a megfelelő és stabil részecskeméret-eloszlás jelentőségének a bemutatását kolloid radiofarmakonok és hatóanyag-hordozók példáin keresztül. Célunk volt továbbá a spontán beteg társállatok (kutyák) összehasonlító kórtani vizsgálatainak elvégzése egy humán célra kifejlesztett radiofarmakon és az új radiofarmakon-jelölt készítmény alkalmazásával. Ezek mellett célunk volt annak igazolása, hogy a nukleáris medicina képzőképző módszerei fontos segítői az új típusú, nanotechnológiával készült gyógyszerek (teranosztikumok, célzott hatóanyag-bevitelben alkalmazott hordozó részecskék) fejlesztésének azok biológiai nyomonkövetésében. A tényleges kísérletek a következők voltak:

1. Előállítás, radioaktív jelzés

- Egy új típusú, önrendeződéssel létrejövő, folát receptort kifejező tumor típusokat targetáló nanorendszer, nanorészecske termék első ízben történő, ^{99m}Tc izotóppal történő radioaktív jelzése: a ^{99m}Tc -BBS-NP készítmény előállítása.
- Humán szérum albumin (HSA) alapú, doxorubicint hordozó nanorészecskék és mikrorészecskék előállítása több részecskeméretű változatban, majd ezek ^{99m}Tc izotóppal történő jelzése: a ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények előállítása.
- A Senti-Scint[®] HSA nanokolloid ^{99m}Tc izotóppal történő jelzése.

2. Jellemzés, in vitro nyomonkövetés

- A ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények doxorubin-megkötési határfokának vizsgálata.
- A Senti-Scint[®], ^{99m}Tc -BBS-NP, ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények jelzetségi-hatásfok vizsgálata.
- A készítmények részecskeméretének (és morfológiájának) vizsgálata.
- A ^{99m}Tc -BBS-NP nanorészecskék sejtkötődésének megállapítása folát receptort kifejező tumoros sejtvonalon.

3. Biológiai alkalmazás, in vivo nyomonkövetés

- A jelzett ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények vizsgálata egészséges állatmodellen.
- A jelzett ^{99m}Tc -BBS-NP nanorészecskék vizsgálata folát receptort kifejező tumor-sejtvonallal transzplantált állatmodellen.
- A jelzett ^{99m}Tc -BBS-NP nanorészecskék vizsgálata spontán eredetű, folát receptort kifejező szájüregi tumorban szenvedő kutyán.
- Spontán eredetű daganatos betegségben szenvedő kutyák őrszem nyirokcsomó (SLN) vizsgálata ^{99m}Tc -jelzett Senti-Scint[®] HSA nanokolloiddal.
- Emlődaganatos női betegek klinikai őrszem nyirokcsomó (SLN) vizsgálata ^{99m}Tc -jelzett Senti-Scint[®] HSA nanokolloiddal.

Módszerek

1. Az új készítmények előállítása, ^{99m}Tc -mal való jelzésük

Az doxorubicint hordozó ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények elkészítéséhez először doxorubicint adtunk HSA oldatokhoz, majd a keverékeket két órán át kevertettük 650 rpm fordulaton, szobahőmérsékleten, különböző pH beállítást alkalmazva. A deszolvatációs művelethez az oldatokhoz etanolt adagoltunk lassan, egy lamináris pumpa segítségével, kevertetés mellett. A polimer-térhálósításra glutáraldehidet használtunk. Az elkészített kolloidokat 16000g-n történő centrifugálással tisztítottuk. A három mintának a részecskemérési eredményeik alapján adtuk a ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 neveket. Az ^{99m}Tc -mal való jelzés érdekében a ón-kloridot alkalmaztunk redukáló ágensként. A ^{99m}Tc -BBS-NP nanorészecskék előállítása a BBS Nanotechnológia Kft. debreceni laboratóriumában történt. Az önrendeződéssel (“self-assembly”) létrejövő, stabil polielektrolit nanorészecskék poli-gamma-glutaminsav és kitozán láncai között lejátszódó ionos gélképződés során alakultak ki. A folsav előzőleg a γ -PGA-ra megkötve. A nanorendszer ^{99m}Tc -mal való jelzéséhez SnCl_2 -t alkalmaztunk redukáló ágensként. A Medi-Radiopharma Kft. által liofilizált formában rendelkezésünkre bocsátott Senti-Scint® radiofarmakon a 600–1110 MBq aktivitású, 3 ml térfogatú ^{99m}Tc -pertechnetát generátor-elútummal történő beoldása során a jelzéshez külön segédanyagot nem igényelt. A megfelelő jelzetségi hatások érdekében a gyártó erre vonatkozó előírásai szerint 20 perces, szobahőmérsékleten történő inkubálási időt biztosítottuk a minták számára.

2. A készítmények jellemzése, in vitro nyomonkövetésük

A ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények doxorubin-megkötési hatásfokát a részecskék 16000 g-n történő centrifugálása után az oldatok felülúszóinak nagy teljesítményű folyadék-kromatográfiás (HPLC) módszerrel történő vizsgálatával mértük. A Senti-Scint[®], ^{99m}Tc -BBS-NP, ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények jelzettségi-hatásfok vizsgálatát vékonyréteg-kromatográfiás (TLC) módszerrel végeztük ITLC-SG-n. A készítmények részecskeméretének vizsgálatát és nyomonkövetését dinamikus fényszórás fotometriával (DLS) végeztük. A ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények részecskeméréseit és morfológiáját transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) vizsgálatokkal támasztottuk alá. A ^{99m}Tc -BBS-NP nanorészecskék sejtkötődésének megállapítására konfokális mikroszkópos vizsgálatokat végeztünk, hepatocelluláris karcinóma (Hepatocarcinoma Debreceniensis, HeDe) sejtvonallal, a nanorészecskék fluoreszcens jelzésével.

3. A készítmények biológiai alkalmazása, in vivo nyomonkövetésük

A jelzett ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítményeket egészséges Wistar-patkányokon vizsgálatuk, Nucline X-ring (Mediso) SPECT gamma kamera segítségével készítettünk felvételeket 5, 15, 30, 60 perccel, majd 2, 8 és 22 órával az injektálások után, hogy meghatározzuk az egyes aktivitás-halmozódások, szerv-aktivitások időbeli

változásait. A ^{99m}Tc -BBS-NP nanorészecskéket folát receptort kifejező hepatocelluláris karcinóma (HeDe) tumor-sejtvonallal (SRCA-módszerrel) transzplantált Fischer 344 patkányokban követtük nyomon gamma-kamera segítségével, összehasonlító kontroll-vizsgálatok végzéséhez ^{99m}Tc -DMSA radiofarmakont alkalmaztunk. A szervezoslási eredményeket ROI-analízisekkel határoztuk meg. A jelzett ^{99m}Tc -BBS-NP nanorészecskéket spontán eredetű, folát receptort kifejező szájüregi tumorban szenvedő kutyában is vizsgáltuk. A ^{99m}Tc -jelzett Senti-Scint[®] HSA nanokolloidot 128 emlődaganatos női beteg klinikai őrszem nyirokcsomó (SLN) vizsgálatában, illetve emellett 24 ismert daganatos betegségben szenvedő kutya őrszem nyirokcsomó vizsgálataiban alkalmaztuk, gamma-kamerás, gamma-szondás és kékfestéses SLN-detektálási módszerek együttes alkalmazásával és összevetésével.

Eredmények

1. Előállítás, radioaktív jelzés

- A ^{99m}Tc -BBS-NP készítmény előállítása: egy új típusú, önrendeződéssel létrejövő, folát receptort kifejező tumor típusokat targetáló nanorendszer, nanorészecske termék első ízben történő, ^{99m}Tc izotóppal történő radioaktív jelzését valósítottuk meg és mutattuk be.
- A ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények előállítása: az értekezésben bemutattuk humán szérum albumin (HSA) alapú, doxorubicint hordozó nanorészecskék és

mikrorészecskék előállítását több részecskeméretű változatban, majd ezeket sikeresen jeleztük ^{99m}Tc izotóppal.

- A Senti-Scint[®] HSA nanokolloid ^{99m}Tc izotóppal történő jelzése.

2. A jellemzések, in vitro nyomonkövetések eredményei

- Nagy teljesítményű folyadékromatográfiás (HPLC) módszerrel igazoltuk, hogy a ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények doxorubin-megkötési hatásfoka 48 órával a preparálás után is 95% fölötti volt.

- Vékonyréteg-kromatográfiás (TLC) módszerrel igazoltuk, hogy a ^{99m}Tc -jelzett Senti-Scint[®] radiokolloid a biológiai alkalmazás előtt megfelelő jelzettségi hatásfokú (95% fölötti). TLC módszerrel igazoltuk, hogy a ^{99m}Tc -BBS-NP, a ^{99m}Tc -DoxHSA180, a ^{99m}Tc -DoxHSA430 és a ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények első ízben történő ^{99m}Tc -jelzése sikeres volt, és 24 órás jelzettségi-hatásfok nyomonkövetéssel igazoltuk, hogy a készítmények izotópmegkötése minden esetben állandó, 97% fölötti volt.

- Dinamikus fényszórás fotometriával (DLS) meghatároztuk a Senti-Scint[®], ^{99m}Tc -BBS-NP, ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények részecskeméretét. Igazoltuk, hogy a készítmények részecskeméret-eloszlásában a jelzési procedura nem okoz jelentős változást, a doxorubicint hordozó HSA kolloidok esetében pedig 1 hetes in vitro nyomonkövetéssel igazoltuk, hogy az idő függvényében sincs jelentős változás a részecskeméret-eloszlásukban.

- A ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítmények transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) vizsgálatával alátámasztottuk a DLS módszerrel végzett részecskeméret-mérési eredményeket, igazoltuk, hogy mindhárom jelzett készítmény gömbszerű részecskékből áll, és a legnagyobb (^{99m}Tc -DoxHSA1800) minta nem tartalmaz olyan méretű aggregátumokat, amelyeket a DLS módszerrel nem mutathatók ki.
- A ^{99m}Tc -BBS-NP fluoreszcens jelzése után hepatocelluláris karcinóma (Hepatocarcinoma Debreceniensis, HeDe) sejtvonalak konfokális mikroszkópos vizsgálataival igazoltuk a nanorészecskék sejt kötődését a folát-receptort kifejező tumor-sejteken.

3. A biológiai alkalmazások, in vivo nyomonkövetések eredményei

- A jelzett ^{99m}Tc -DoxHSA180, ^{99m}Tc -DoxHSA430 és ^{99m}Tc -DoxHSA1800 készítményeket egészséges Wistar-patkány állatmodelleken vizsgáltuk, a kísérletekkel igazoltuk, hogy a jelzett készítmények in vivo környezetben megfelelő jelzettségi határfokot és megfelelően állandó a részecskeméret-eloszlást mutatnak. Az eredményekkel rámutattunk arra, hogy a doxorubicint hordozó HSA részecskéket a jövőben a méretük megválasztása által is lehetséges lesz különböző célba juttatási módszerekkel alkalmazni. Emellett az eredményekkel rámutattunk arra, hogy a SPECT képalkotás pontos és szemléletes eszköze a ^{99m}Tc -mal jelzett hatóanyag-hordozó rendszerek (és az ún. teranosztikumok) biológiai nyomonkövetésének, in vivo minőségellenőrzésének.

- A jelzett ^{99m}Tc -BBS-NP nanorészecskéket folát receptort kifejező hepatocelluláris karcinóma (HeDe) tumor-sejtvonallal SRCA-módszerrel transzplantált Fischer 344 patkány-állatmodelleken vizsgáltuk. Bizonyítottuk a jelzett ^{99m}Tc -BBS-NP nanorendszer folát-receptorokra való egyértelmű specifikus kötődését. Igazoltuk, hogy a ^{99m}Tc -BBS-NP nanorendszernek az injektálás után az izotópmegkötő határfoka stabil, a részecskemérete pedig állandó marad. Ezen felül igazoltuk, hogy a ^{99m}Tc -BBS-NP koncentrációja az i.v. injektálást követően, a SPECT és SPECT/CT vizsgálatok alapján a tumoros vesékben minden vizsgált időpontban magasabb volt (24 órával az injektálás után az injektált nanorészecskék 8,54%-a halmozódott a tumorban) a kontralaterális oldalhoz és a ^{99m}Tc -DMSA kontroll-radiofarmakon tumorhalmozásához képest.
- Elvégeztük a jelzett ^{99m}Tc -BBS-NP nanorészecskéekkel egy spontán eredetű, folát receptort kifejező szájüregi tumorban szenvedő kutya SPECT vizsgálatát. Igazoltuk a jelzett ^{99m}Tc -BBS-NP nanorendszer folát-receptorokra való egyértelmű specifikus kötődését. Gamma-kamerás felvételekkel igazoltuk, hogy a készítmény az i.v. injektálást követően 2 órával a teljes injektált aktivitás 3,11%-a halmozódott a szájüregi daganatban, a kutya koponya régiójáról elvégzett háromdimenziós SPECT vizsgálatok pedig pontosan körülírható tumorfelvételt igazoltunk. A spontán eredetű tumorban szenvedő kutya vizsgálatának eredményességével arra is rámutattunk, hogy a kutya jól használható állatmodell, ha új típusú nanorészecskék biológiai alkalmazásának lehetőségeit kutatjuk humán célra kifejlesztett SPECT-készülék segítségével. A ^{99m}Tc -BBS-NP nanorendszer biológiai vizsgálataiban összességében igazoltuk, hogy az új, ^{99m}Tc -mal jelzett nanorendszer alkalmas lesz később akár emberi, folát-receptort kifejező tumorok jó szelektivitással történő azonosítására is.

- A ^{99m}Tc -jelzett Senti-Scint[®] HSA nanokolloiddal 128 emlődaganatos női beteg klinikai őrszem nyirokcsomó (SLN) vizsgálatát végeztük el a limfoszcintigráfiai (gamma-kamerás), gamma-szondás és kékfestéses SLN-detektálási módszerek együttes alkalmazásával. Igazoltuk, hogy egy vagy két darab őrszem nyirokcsomó azonosítása megbízhatóan elvégezhető a betegek döntő többségénél (95%) úgy, hogy az SLN vizsgálatokra 175 nm-es átlagos részecskeméretű nanokolloidot alkalmaztunk.
- Ismert daganatos betegségben szenvedő kutyák őrszem nyirokcsomó (SLN) vizsgálatát végeztük el ^{99m}Tc -jelzett Senti-Scint[®] HSA nanokolloiddal, a limfoszcintigráfiai (gamma-kamerás), gamma-szondás és kékfestéses SLN-detektálási módszerek együttes alkalmazásával. Megállapítottuk, hogy az érintett nyirokcsomók 97%-át lehetett intraoperatív gamma-szondával azonosítani, 89%-a tisztán kivehető és azonosítható volt a gamma-kamerás felvételeken, míg a kékfestéses módszer az esetek 77%-ában volt eredményes. Az eredményekkel igazoltuk, hogy a humán célra kifejlesztett nanokolloid a kutyák SLN-azonosításában ugyanolyan eredményességgel alkalmazható, mint a humán vizsgálatokban. Az eredményekkel ezen felül igazoltuk azt is, hogy a spontán eredetű tumorban szenvedő kutyák pontos, és jól alkalmazható állatmodelljei lehetnek az őrszem nyirokcsomóval kapcsolatos kutatásoknak.

Következtetések

Az értekezésben egy új diagnosztikai radiofarmakon-jelölt készítmény előállítását mutattunk be, egy folát-receptort célzó, önrendeződéssel létrejövő, ^{99m}Tc -jelzett nanorendszer első alkalommal történő SPECT és SPECT/CT alkalmazását, illetve a különböző későbbi célbajuttatási lehetőségek érdekében különböző részecskeméretű, doxorubicint hordozó, ^{99m}Tc -jelzett nano- és mikrorészecskék előállítását és nyomonkövetését.

A kolloid radiofarmakonok és hatóanyag-hordozók példáin keresztül a megfelelő és stabil részecskeméret-eloszlás jelentőségét is igazoltuk.

A dolgozatban emellett spontán eredetű daganatos betegségekben szenvedő társállatok (kutyák) összehasonlító kórtani vizsgálatát mutattuk be egy humán célra (őrszem nyirokcsomó detektálására) kifejlesztett radiofarmakon és az új radiofarmakon-jelölt készítmény első alkalommal történő klinikai alkalmazásával.

A bemutatott példákon keresztül igazoltuk, hogy a nukleáris medicina képalkotó módszerei fontos segítői az új típusú, nanotechnológiával készült gyógyszerek (teranosztikumok, célzott hatóanyag-bevitelben alkalmazott hordozó részecskék) fejlesztésének azok biológiai nyomonkövetésében.

Saját publikációk jegyzéke

A disszertáció témájához kapcsolódó közlemények:

Polyak A, Hajdu I, Bodnar M, Trencsenyi Gy, Postenyi Z, Haasz V, Janoki G, Janoki GyA, Balogh L, Borbely J. ^{99m}Tc -labeled Nanosystem as Tumor Imaging Agent for SPECT and SPECT/CT Modalities. International Journal of Pharmaceutics (2013) 449,1–2, p10–17 (IF2013: 3.350)

Polyak A, Palade EA, Balogh L, Postenyi Z, Haasz V, Janoki G, Janoki GyA. In vitro and biodistribution examinations of Tc-99m-labelled doxorubicin-loaded nanoparticles. Nuclear Medicine Review 2011, 14, 2: 1–8

Mirzaei S, Rodrigues M, Hoffmann B, Knoll P, Riegler-Keil M, Kreuzer W, Salzer H, Köhn H, **Polyak A**, Jánoki GA. Sentinel lymph node detection with large human serum albumin colloid particles in breast cancer. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (2003) 30:874–878 (IF2003: 3.324)

Balogh L, Thuróczy J, Andócs G, Máthé D, Chaudhari P, Perge E, Biksi I, **Polyak A**, Király R, Jánoki GyA. Sentinel lymph node detection in canine oncological patients. Nuclear Medicine Review 2002 Vol. 5, No. 2.

A disszertáció témájához kapcsolható szabadalmak:

POLYAK A, BORBÉLY J, BALOGH L. Thulium-170 incorporating microparticle compound, a new therapeutic radiopharmaceutical agent. US patent 61803724 2013.

BORBÉLY J, BODNÁR M, BALOGH L, **POLYAK A**. Radiolabeled Nanosystem. US patent 61644611 2012.

A disszertációhoz szorosan nem köthető további tudományos közlemények referált folyóiratokban:

Bálint K, Balogh L, Pöstényi Z, Kovács-Haász V, **Polyák A**, Jakab Cs, Thuróczy J, Kollár E, Müller L, Andócs G, Jánoki G, Jánoki GyA, Szász A. Kutyák malignus melanomájának diagnosztikai és terápiás kérdései. 2. rész: Saját tapasztalatok. Magyar Állatorvosok Lapja 2011. 7: 424-31. (IF2011: 0.201)

Chakraborty S, Das T, Banerjee S, Balogh L, Chaudhari PR, Sarma HD, **Polyak A**, Máthé D, Venkatesh M, Janoki G, Pillai MR. ¹⁷⁷Lu-EDTMP: a viable bone pain palliative in skeletal metastasis. Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals 2008 Apr;23(2):202-13. (IF2010: 1.318)

Máthé D, Balogh L, **Polyak A**, Király R, Márián T, Pawlak D, Zaknund JJ, Pillai MRA, Jánoki GyA. Multispecies animal investigation on biodistribution, pharmacokinetics and toxicity of ¹⁷⁷Lu-EDTMP, a potential bone pain

palliation agen. Nuclear Medicine and Biology 37 (2010) 215–226. (IF2010: 2.620)

Balogh L, **Polyak A**, Mathe D, Kiraly R, Thuroczy J, Terez M, Janoki Gy, Ting Y, Bucci LR and Schauss AG. Absorption, Uptake and Tissue Affinity of High-Molecular-Weight Hyaluronan after Oral Administration in Rats and Dogs. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56 (22), pp 10582–10593 (IF2008: 2.562)

Balogh L, Máthé D, Andócs G, **Polyak A**, Király R, Thuróczy J, Szilágyi J, Chaudhari P, Jánoki GyA. Veterinary nuclear medicine again commentary and remarks on: Krzemiński M et al. Veterinary nuclear medicine a review. Nuclear Medicine Review 2005., Vol. 8, No. 1

Máthé D, Balogh L, **Polyák A**, Jánoki Gy. Szcintigráfias vizsgálatok gyakorlati alkalmazása kutya mastocytomában. KISÁLLATPRAXIS 6:(1) pp. 2-6. (2005)

Balogh L, Perge E, Thuróczy J, Máthé D, Andócs G, **Polyák A**, Szilágyi J, Tibold A, Jánoki Gy. Bilaterális emlőkarcinóma hím tengeri malacban. KISÁLLATPRAXIS 6:(4) pp. 152-155. (2005)

Máthé D and Chaudhari PR, Balogh L, **Polyak A**, Király R, Andócs G, Perge E, Glávits R, Jánoki GA. Preliminary studies with ¹⁸⁸Rhenium-tin colloid for radiation synovectomy: preparation, size determination, in-vivo distribution, effects and dosimetry studies. Nuclear Medicine Review 2002., Vol. 5, No. 2