

О.П. Власова¹, Е.Д. Степченкова¹, В.М. Петриев^{1,2}, О.Е. Клементьева², Д.В. Степченков⁴,
А.С. Красноперова³, А.А. Кузнецов⁴, Н.А. Нерозин⁴, С.А. Иванов¹, А.Д. Каприн¹

РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «ДТПА-МИКРОСФЕРЫ АЛЬБУМИНА, ⁹⁰У»

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава РФ, Обнинск

² Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва

³ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

⁴ АО ГНЦ РФ — Физико-энергетический институт, Обнинск

Контактное лицо: Власова Оксана Петровна, somina@inbox.ru

РЕФЕРАТ

Цель: 1. Разработка технологии получения радиофармацевтического лекарственного препарата (РФЛП) на основе меченных ⁹⁰У модифицированных микросфер альбумина крови человека. 2. Проведение исследования функциональной пригодности препарата на экспериментальных животных.

Материал и методы: Изучались следующие характеристики РФЛП: динамика распределения и выведения после его внутриартериального введения; механизм действия РФЛП в организме животных с модельной патологией; терапевтическая эффективность РФЛП у животных с моделью опухоли печени.

Были заявлены следующие физико-химические характеристики разрабатываемого РФЛП: модифицированные ДТПА и меченные ⁹⁰У микросферы альбумина крови человека, размер частиц 25–40 мкм, радиохимические примеси менее 5,0%, радионуклидные примеси по ⁹⁰Sr менее 0,002%, химические примеси (Na, Al, Ca, Fe, Cu, Zn, Cd, Pb) в сумме не более 10 мкг/ГБк, объемная активность до 150 МКи/мл на дату приготовления. В качестве экспериментальных животных были взяты крысы-самки линии Sprague Dawley (масса тела 220–260 г). Исследования проводили на модельной патологии — гепатоцеллюлярной карциноме, встречающейся в 85% случаев всех злокачественных опухолей печени человека.

Результаты: В 2018–2019 гг. были наработаны 9 опытных партий РФЛП, удовлетворяющие заявленным характеристикам. Отмечено стабильное торможение роста опухолевых очагов на 7,62%. Качество жизни у животных с ортотопическими опухолевыми очагами гепатокарциномы, получавших лечение, было лучше, чем у животных, не получавших лечение. Продолжительность жизни у группы животных, прошедших терапию препаратом, была выше, чем у группы животных, не получивших лечение, на 7,1%. Распределение РФЛП характеризовалось легочным шунтированием, не превышающим 9% от введенной активности и минимальным пробросом в циркулирующую кровь. РФЛП прочно удерживался в месте введения и оставался почти неизменным в течение всего времени исследования. Связывание с опухолевым очагом препарата характеризовалось удержанием не менее 78% введенной активности.

Заключение: Проведенные доклинические исследования фармакокинетики РФЛП показывают его потенциальную пригодность для лечения рака печени методом трансартериальной радионуклидной эмболизации. По результатам доклинических исследований терапевтической эффективности РФЛП его следует считать эффективным для клинического применения.

Ключевые слова: радиофармацевтический лекарственный препарат, микросферы альбумина, иттрий-90, рак печени, радионуклидная эмболизация, доклинические испытания, фармакокинетика, эффективность

Для цитирования: Власова О.П., Степченкова Е.Д., Петриев В.М., Клементьева О.Е., Степченков Д.В., Красноперова А.С., Кузнецов А.А., Нерозин Н.А., Иванов С.А., Каприн А.Д. Результаты доклинических испытаний эффективности радиофармпрепарата «ДТПА-микросферы альбумина, ⁹⁰У». Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2020;65(5):60–7.

DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-5-60-67

Введение

Данные канцеррегистра МНИОИ им. П.А. Герцена свидетельствуют о том, что количество заболевших первичным раком печени с каждым годом увеличивается. Если в 2007 г. в России было зарегистрировано 6471 человек с диагнозом первичного рака печени, то к 2017 г. количество зарегистрированных пациентов с аналогичным заболеванием увеличилось на 33% и составило 8623 человека [1, 2].

Метастатические опухоли печени регистрируют на порядок чаще, чем первичные, поскольку печень является одним из самых часто поражаемых метастазами органом, что связано с ее функцией в организме и соответствующим характером кровоснабжения. Наиболее часто заболевают вторичным раком печени пациенты, имеющие злокачественные образования в кишечнике, желудке и поджелудочной железе, а также легких и органах мочеполовой системы. Как правило, больные с метастатическими поражениями печени

встречаются в 30–40 раз чаще, чем с первичным раком печени. Метастатический рак печени обычно характеризуется быстрым прогрессированием и отсутствием специфических лабораторных и клинических признаков. Прогноз по данному заболеванию неутешительный. Половина таких пациентов умирают в первый год диагностирования болезни [3].

Лечение рака печени зависит от стадии заболевания и может включать в себя оперативное лечение, лучевую терапию, химиотерапию. Единственным методом, позволяющим добиться длительной выживаемости при первичном раке печени, является хирургическая операция. В России основным методом лечения больных раком желудка, ободочной кишки, печени, легкого, почки, мочевого пузыря, прямой кишки, щитовидной железы, костей и суставных хрящей, меланомы кожи является хирургический метод (55–89%) [3, 4]. Однако в большинстве случаев к моменту диагностики злокачественного новообразования

печени радикальное удаление опухоли возможно лишь у 5–15% больных. Рецидив опухоли в течение 3–5 лет после резекции печени наблюдается у 60–90% пациентов, из них повторную резекцию удается выполнить не более чем у 10% пациентов. Таким образом, очевидно, что в нехирургической противоопухолевой терапии рака печени нуждаются до 80% больных [5, 6].

Для лечения больных с нерезектабельным поражением печени в России используют системную химиотерапию или методы локорегионарного воздействия, включающие химиоинфузию и химиоэмболизацию печеночной артерии. Также с 2002 г. за рубежом эффективно стали применять локальную радионуклидную терапию методом трансартериальной радиоэмболизации (ТАРЭ) микросферами с радионуклидом ^{90}Y , а с 2010 г. — лечение РФЛП с ^{131}I -липидолом (LipioCis).

ТАРЭ — методика, которая предполагает сочетание эмболизации и радионуклидной терапии. Она проводится путем введения в печеночную артерию микроразмерных радиоактивных частиц в виде микросфер. Терапевтическая доза излучения достигается в течение 2 нед от момента введения. При отсутствии противопоказаний к процедуре выбирают дозу предполагаемого облучения обычно в пределах 120–150 Гр [7, 8].

В 2002 г. FDA (Food and Drug Administration) США санкционировала клиническое использование полимерных микросфер с ^{90}Y (SIR-spheres, Sirtex Medical, Австралия) и в 2004 г. — стеклянных микросфер ^{90}Y (Theraspheres, MDS Nordion, Канада) для лечения гепатоцеллюлярного рака и метастазов колоректального рака в печень [5, 6]. В настоящее время этот метод разрешен в качестве лечения злокачественных опухолей печени разного генеза во многих странах мира, в том числе и в России.

Иттрий-90 (^{90}Y) уже более тридцати лет применяют в радионуклидной терапии благодаря его подходящим физико-химическим характеристикам. Являясь чистым бета-излучателем, ^{90}Y имеет период полураспада 64 ч, что минимизирует лучевую нагрузку на организм пациента. Кроме того, максимальная энергия бета-частиц ^{90}Y составляет 2,28 МэВ (0,9 МэВ — средняя энергия), поэтому они способны проникать на глубину до 13 мм (в среднем 4 мм) в мягкой биологической ткани [2, 9].

Микросферы с ^{90}Y проникают по капиллярам в опухолевый очаг примерно на 3,5 мм. Так как скорость кровотока и количество капилляров в опухоли в 3–7 раз больше, чем в окружающих тканях, создается целенаправленная доставка микросфер по капиллярам в ложе опухоли и высокая доза локального облучения опухоли (120–200 Гр) при относительно небольшом облучении здоровой, окружающей опухоль, ткани печени (20–30 Гр). Для достижения этого эффекта микросферы необходимо ввести как можно более точно в артерии, питающие новообразование, и одновременно избежать попадания частиц по шунтам в соседние органы [7, 8].

На сегодняшний день сформированы лечебные протоколы ТАРЭ под рентгеновским контролем с

применением микросфер на основе радионуклида ^{90}Y , разработаны системы дозиметрического планирования, успешно пролечено более 30 тыс. пациентов в странах Европы и США [5–7]. В 2017 г. United Healthcare Oxford Clinical Policy (УНОСР) издало руководство по ТАРЭ, которое базировалось на анализе различных мировых клинических практик по селективной внутренней радиационной терапии (SIRT) или, иначе, радионуклидной эмболизации микросферами с ^{90}Y , в США и Европе с 1996 по 2017 гг. По заключению УНОСР, ТАРЭ с ^{90}Y клинически показана и является необходимой с медицинской точки зрения для следующих поражений:

— радиочувствительные к излучению метастатические опухоли печени от первичного колоректального рака;

— радиочувствительные метастазы в печени от нейроэндокринных опухолей;

— неоперабельная первичная гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК).

Ограниченные данные свидетельствуют о том, что ТАРЭ может угнетать рост опухоли и облегчать симптомы у некоторых пациентов, иногда достаточно, чтобы сделать неоперабельную опухоль операбельной. Однако не выявлено статистически значимого увеличения выживаемости. Кроме того, до сих пор не изучалось потенциальное воздействие лечения на качество жизни [7, 8].

Клинический опыт ТАРЭ в России составляет на настоящий момент лишь 8 наблюдений: в 2009 г. ТАРЭ стеклянными микросферами, содержащими ^{90}Y , осуществлена в РНЦРХТ Минздрава РФ (Санкт-Петербург) у 4 больных. В 2011 г. 1 операция была проведена в ГКБ № 55 (Москва). К началу 2012 г. еще две процедуры ТАРЭ стеклянными микросферами были выполнены специалистами НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава РФ (Москва). И, наконец, еще одна процедура ТАРЭ стеклянными микросферами с ^{90}Y производства ООО «Бебиг» была проведена в мае 2019 г. в МРНЦ им. А.Ф. Цыба (Обнинск) [2, 4, 5].

Причина столь ограниченного клинического применения этого метода лечения в России связана как с достаточно высокой стоимостью процедуры ТАРЭ зарубежными препаратами (порядка 1,5 млн руб.), так и со сложной логистикой зарубежных препаратов с ^{90}Y в российские клиники, вследствие короткого периода полураспада радионуклида (64 ч) [5, 9].

Целью настоящего исследования являлась разработка технологии получения РФЛП на основе меченых ^{90}Y модифицированных диэтилентриаминпентауксусной кислотой (ДТПА) микросфер альбумина крови человека, а также проведение исследования функциональной пригодности препарата на экспериментальных животных.

Были сформулированы следующие задачи:

1. Получение готовой лекарственной формы РФЛП по разработанной опытно-промышленной технологии с заданными физико-химическими параметрами.

2. Изучение терапевтического эффекта и функциональной пригодности РФЛП терапевтической активности в эквивалентном пересчете на лабораторных животных.

3. Исследование фармакокинетики РФЛП.

Материал и методы

Активную фармацевтическую субстанцию (АФС ^{90}Y) производят в АО «ГНЦ РФ — ФЭИ» (Калужская область, г. Обнинск). Препарат представляет собой стерильный раствор хлорида ^{90}Y в 0,04 М растворе хлористоводородной кислоты. Препарат соответствует по качеству и является аналогом препарата «Стерильный

Таблица 1

Основные физико-химические характеристики АФС ^{90}Y (АО «ГНЦ РФ — ФЭИ»)

Basic physical and chemical characteristics of ^{90}Y active pharmaceutical substance (IPPE JSC)

Показатель	Норма
Внешний вид	Бесцветная прозрачная жидкость
Химическая форма	$^{90}\text{YCl}_3$, хлорид иттрия-90 в 0,04 М растворе хлористоводородной кислоты
Объемная активность	Не менее 5,5 (150) ГБк/мл (мКи/мл),
Объем, мл	0,5–5,0
Калибровка по активности	3 сут от даты производства
Радионуклидные примеси, %, не более: ^{90}Sr другие γ -излучающие	0,002 0,01
Химические примеси, мкг/ГБк: Na, Al, Ca, Fe, Cu, Zn, Cd, Pb, в сумме не более	10,0
Стерильность	Стерильный
Содержание бактериальных эндотоксинов, не более	35 ЕЭ/мл
Срок годности, сутки от даты производства	5

Таблица 2

Основные физико-химические характеристики «Микросферы альбумина-ДТПА, лиофилизат»

Basic physical and chemical characteristics of «Albumin Microspheres-DTPA, lyophilisate»

Показатель	Норма
Внешний вид	Ллиофилизат желтоватого цвета
Размер частиц	25–40 мкм
Стерильность	Стерильны
Пирогенность	Апирогенны
Срок годности	6 мес от даты производства
Хранение	Хранят в холодильнике в хорошо закупоренных флаконах при температуре +2 °С до +8 °С
Комплектность	Один флакон содержит 20 мг субстанции «ДТПА-Микросферы альбумина, 25–40 мкм» и 1 мг Твина-80; рассчитан на получение одного флакона готовой лекарственной формы РФЛП «ДТПА-Микросферы альбумина, 25–40 мкм, ^{90}Y »

раствор иттрия-90, ^{90}Y хлорид», зарегистрированного в Европе как фармацевтическая субстанция для изготовления РФЛП (регистрационное удостоверение ЕУ /1/05/322/001). Основные характеристики АФС ^{90}Y представлены в табл. 1.

Микросферы альбумина, модифицированные диэтилентриаминпентауксусной кислотой (ДТПА-Микросферы альбумина, лиофилизат) производят в МРНЦ им. А.Ф. Цыба. Основные характеристики «Микросферы альбумина-ДТПА, лиофилизат» представлены в табл. 2.

РФЛП для проведения доклинических испытаний готовили в АО «ГНЦ РФ — ФЭИ» (лаборатория радиофармпрепаратов НПК ИиРФП) по разработанной в МРНЦ им. А.Ф. Цыба (лаборатория экспериментальной ядерной медицины) опытно-промышленной технологии. Всего в 2018–2019 гг. было наработано 9 серий РФЛП терапевтической активности.

Изучение функциональной пригодности РФЛП проводилось в ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России в лаборатории доклинических и клинических исследований радиофармпрепаратов с применением методик, описанных в [10, 11].

Для исследований функциональной пригодности РФЛП «ДТПА-Микросферы альбумина, 25–40 мкм, ^{90}Y » использованы: крысы линии Sprague Dawley, самки, средняя масса тела 220–260 г. Животные получены из сертифицированных питомников лабораторных животных «Пушино» ФИБХ РАН.

Исследования проводили на модельной патологии — гепатоцеллюлярной карциноме (ГЦК), встречающейся в 85 % случаев всех злокачественных опухолей печени [3]. Для моделирования ортотопических очагов ГЦК была использована культура опухолевых клеток ГЦК крыс линии N1-S1, полученная из опухолевого очага ГЦК, индуцированной 4-диметиламиноазобензолом у самца крысы линии Sprague-Dawley. Опухолевый штамм N1-S1 получен из банка клеточных культур Американской коллекции типовых культур (ATCC) в виде замороженного образца [Product Sheet N1S1 (ATCC® CRL1604™)].

Опухоль перевивали крысам-самкам линии Sprague-Dawley со средней массой тела 240 ± 20 г, которым стерильно вводили в ткань печени опухолевые клетки в количестве 6×10^6 клеток в 0,15 мл среды DMEM. На 14-е сут после перевивки опухоли крысам с установленной на УЗИ опухолью внутриартериально вводили РФЛП.

При исследовании фармакокинетики накопление (A_k) РФЛП в органах (кровь, легкие, сердце, желудок с содержимым, печень/печень с ГЦК, почки, селезенка, кишечник) крыс рассчитывали по формуле (1) [8, 9]:

$$A_k = \frac{A_{\text{пробы}}}{A_{\text{эталон}}} \times 100 \%, \quad (1)$$

где $A_{\text{пробы}}$ — счет от образца в имп/мин, $A_{\text{эталон}}$ — счет от суммарной активности всего тела животного в имп/мин.

Таблица 3

Физико-химические характеристики РФЛП «ДТРА-Микросферы альбумина, 25–40 мкм, ⁹⁰У»
Physical and chemical characteristics of radiopharmaceutical «ДТРА-albumin microspheres, 25-40 μm, ⁹⁰Y»

№ серии	Дата наработки	⁹⁰ Sr, %	Химические примеси в Σ, мкг/ГБк	Объем, мл		Объемная активность МБк/мл (мКи/мл)	
0106030518	04.05.18	0,001	5	3,18		3180 (86,0)	
0207230518	23.05.18	0,001	5	1,00		5650 (152,7)	
0309040818	04.08.18	0,001	8	1,90		1530(41,2)	
0511071018	07.10.18	0,001	7	2,00		2060 (55,7)	
0101290319	29.03.19	0,001	7	0,84	0,94	251,4(9,3)	224,6(8,3)
0202170419	17.04.19	0,001	5	1,08	1,08	153,6(5,68)	154,1(5,7)
0303170519	17.05.19	0,001	5	0,94	0,94	162,2(6,0)	163,3(6,04)
0404290519	29.05.19	0,001	5	1,20		163,3(6,04)	
0505060619	06.06.19	0,001	6	1,30		161,2(5,97)	

Коэффициент дифференциального накопления РФЛП (КДН) рассчитывали как отношение накопления вводимого РФЛП в целевых тканях (тканях-мишенях) к нецелевым, и вычисляли по формуле (2) [9, 11].

$$КДН = \frac{A_m}{A_{nm}}, \tag{2}$$

где A_m — накопление исследуемого РФЛП в 1 г целевой ткани, A_{nm} — накопление РФЛП в 1 г нецелевой ткани [11].

Результаты и обсуждение

Результаты контроля качества 9 стерильных и апиrogenных серий РФЛП, наработанных в АО «ГНЦ РФ — ФЭИ» в 2018–2019 гг., представлены в табл. 3.

Для проведения доклинических испытаний в ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России были направлены первые три серии наработанного РФЛП. Результаты этих доклинических испытаний представлены в данном номере журнала (С. 51–59).

Для оценки фармакокинетики и функциональной пригодности РФЛП по терапевтическому эффекту после введения препарата в артерию печени лабораторных животных с моделью ГЦК, основными критериями были выбраны: минимальное внепеченочное накопление (поглощенные дозы в интактной ткани печени ≤ 4,5 ± 1,9 Гр; легких ≤ 4,1 ± 1,2 Гр; почках ≤ 0,9 ± 0,7 Гр), легочное шунтирование ≤ 5% от введенной активности, поглощенная доза в опухолевом очаге ≥ 22,5 Гр.

Изучение механизма терапевтического действия РФЛП проводилось путем оценки его противоопухолевого терапевтического действия по следующим критериям: торможение роста опухоли; увеличение продолжительности жизни; улучшение качества жизни.

Исследование торможения роста опухоли было проведено с использованием 2 групп крыс (25 крыс в контрольной группе № 1 и 25 крыс в группе с введением РФЛП № 2). Группе животных № 2 было выполнено внутриартериальное (в артерию печени) вве-

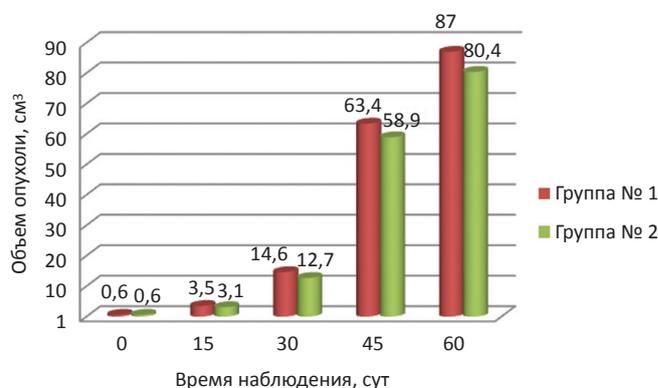


Рис. 1. Изменение среднего объема опухоли
 Fig. 1. Change in mean tumor volume

дение РФЛП с активностью 59,7 МБк ⁹⁰У на каждое животное, что соответствует эквивалентной терапевтической активности порядка 3000 МБк человека [11]. Животным группы контроля вместо РФЛП внутриартериально был введен физиологический раствор [12].

В день введения РФЛП (или физиологического раствора) крысам и через каждые последующие 15 дней было умерщвлено по 5 животных из групп № 1 и № 2, проведены необходимые измерения и расчеты. Морфометрическая характеристика органов выполнена по показателям: спленомегалия, гепатомегалия, увеличение лимфоузлов, наличие метастазов, спаечный процесс, изменение паренхимы печени.

Результаты изменения объемов опухолей у крыс групп № 1 и № 2 в течение 60 сут приведены на рис. 1.

В целом во все сроки наблюдения у животных группы № 2 средний объем опухоли меньше, по сравнению с животными в группе № 1. Полученные результаты показывают, что у животных группы «леченые» отмечено стабильное торможение опухолевого роста, причем более сильное действие РФЛП отмечается в первые дни терапии и составляет 13%, затем оно несколько снижается до значения 7,6% на 60-е сут наблюдения.

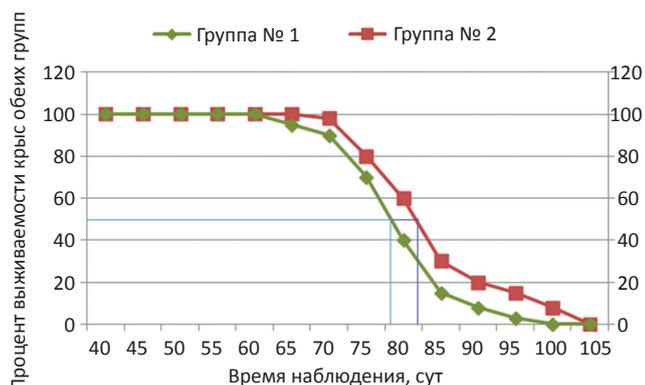


Рис. 2. Кривые выживаемости (линиями отмечены медианы выживаемости)
 Fig. 2. Survival curves (the lines indicate the median survival)

По результатам выполненной патоморфологической оценки внутренних органов крыс обеих групп было обнаружено, что в группе животных без терапии (№ 1) патологический процесс развивался значительно быстрее и давал осложнения на другие органы. В группе № 1 зафиксирован более активный спаечный процесс близлежащих органов, увеличение селезенки у 80% особей на 60 сут. У групп «леченых» животных наблюдались менее ярко выраженные патоморфологические изменения (спленомегалия только у 40%, гепатомегалия, нарушение паренхимы печени, увеличение лимфоузлов, спаечный процесс) с 45 по 60 сут после терапии.

Исследование увеличения продолжительности жизни и оценку качества жизни проводили на животных, разделенных на 2 экспериментальные группы (40 крыс в контрольной группе № 1 и 40 крыс в группе № 2 с введением РФЛП). Контрольной группе крыс был введен стерильный изотонический раствор хлорида натрия в объеме, равном объему введенного РФЛП.

Расчеты продолжительности жизни проводились по результатам наблюдаемой гибели животных в обеих группах. Оценку качества жизни животных обеих групп проводили каждые 10 сут в течение 60 сут после

введения РФЛП и физраствора по показателям: активность движений, сутулая поза, нахохливание, кожные покровы, диарея, дегидратация, захваты и конвульсии, поедание корма, кровотечения.

На рис. 2 представлены кривые выживаемости животных в обеих группах.

Из графика видно, что выживаемость в опытной группе животных № 2 выше, чем в контрольной группе. Медиана выживаемости для группы № 1 составила 78 сут, а для группы № 2 — 84 сут. Полученные результаты показывают увеличение продолжительности жизни крыс в группе № 2 по сравнению с группой нелеченых особей (№ 1) на 7%. Эти результаты подтверждают наличие терапевтического действия исследованного радиофармпрепарата.

Также было доказано улучшение качества жизни животных с модельной патологией гепатокарциномы после терапии РФЛП. По результатам оценки внешних признаков качества жизни можно видеть, что в группе № 1 уже на 30-е сут отмечалась диарея, вялость при движении, плохое поедание корма, нагноения на коже, захваты и конвульсии на последних неделях, истощение. В группе № 2 до 45-х сут видимых ухудшений не наблюдалось, животные были активны, потребление корма было в норме.

Можно сделать вывод, что общее состояние животных с модельной патологией ГЦК после терапии РФЛП на протяжении всего периода исследования было лучше, чем у животных, не получавших терапию.

Фармакокинетику РФЛП определяли путем исследования динамики процессов распределения и выведения препарата после его введения в печеночную артерию у крыс-самок в норме (группа № 1) и крыс-самок с моделью патологии (группа № 2). В каждой группе было по 30 особей. Животным внутриартериально в гастродуоденальную артерию вводили РФЛП активностью 33 МБк в объеме 0,05 мл. После введения препарата через 3, 24, 48, 72, 96 и 120 ч по 5 животных из каждой группы умерщвляли с последующим отбором проб органов и тканей для определения в них содержания радионуклида ⁹⁰Y методом прямой радиометрии с использованием автоматического гамма-счетчика Wizard 2480 (PerkinElmer, USA). Содержание

Таблица 4

Динамика распределения РФЛП после его внутриартериального введения у крыс в норме (% от введенной дозы/орган)

Trends in distribution of radiopharmaceutical after intra-arterial administration in normal rats (% of the administered dose per organ)

Орган, ткань	Время после введения препарата, ч					
	3	24	48	72	96	120
Кровь	0,29±0,05	0,17±0,06	0,11±0,02	0,07±0,02	0,03±0,01	0,02±0,01
Легкие	9,23±0,43	9,53±0,55	8,33±1,12	7,27±0,76	7,64±0,29	7,71±0,26
Сердце	0,19±0,04	0,65±0,14	0,35±0,13	0,24±0,03	0,22±0,04	0,19±0,03
Желудок	8,70±1,48	5,23±1,42	0,87±0,13	1,75±0,35	1,68±0,30	1,55±0,44
Печень	68,56±1,76	67,14±2,73	68,21±2,40	71,31±1,32	73,78±0,64	72,81±3,50
Почки	5,96±0,88	11,25±1,22	11,85±0,73	12,35±1,17	11,53±0,45	10,85±0,60
Селезенка	0,98±0,22	0,84±0,27	1,83±0,43	2,00±0,52	0,59±0,14	0,17±0,06
Кишечник	4,71±0,74	4,76±0,80	8,27±1,18	4,84±0,70	4,49±0,65	5,78±0,90

Таблица 5

Динамика распределения РФЛП после его внутриартериального введения у крыс с моделью патологии (% от введенной дозы/орган)

Trends in distribution of radiopharmaceutical after intra-arterial administration in rats with pathology (% of the administered dose per organ)

Орган, ткань	Время после введения препарата, ч					
	3	24	48	72	96	120
Кровь	0,29±0,05	0,17±0,06	0,11±0,02	0,07±0,02	0,03±0,01	0,02±0,01
Легкие	8,78±0,97	8,23±0,57	6,87±1,04	6,01±1,64	4,96±1,02	4,88±1,04
Сердце	0,29±0,11	1,17±0,57	0,38±0,20	0,18±0,10	0,47±0,15	0,24±0,08
Желудок	5,40±1,38	2,06±0,30	3,80±0,80	2,40±1,09	0,73±0,21	0,41±0,11
Печень	73,82±4,62	69,95±4,68	72,00±8,07	72,94±2,87	78,37±0,80	78,03±1,74
Почки	4,69±0,74	11,55±2,25	11,64±5,58	10,33±2,16	9,86±1,04	8,10±1,89
Селезенка	0,40±0,26	0,63±0,23	3,48±0,52	0,69±0,28	0,27±0,12	0,23±0,09
Кишечник	5,15±1,12	7,41±2,40	3,67±0,38	4,70±2,51	4,66±1,77	4,39±0,59

Таблица 6

Расчетные значения КДН
Calculated values of differential uptake ratios

КДН	Время после введения препарата, ч					
	3	24	48	72	96	120
КДН ₁	14,60±4,95	34,50±5,27	20,20±7,82	36,90±20,1	119,40±49,4	200,50±59,0
КДН ₂	8,50±1,14	8,52±0,71	10,80±2,67	13,00±4,15	16,40±3,75	16,60±3,25
КДН ₃	16,20±3,64	6,26±1,35	7,50±3,61	7,28±1,34	8,03±0,89	10,10±2,57

РФЛП в пробе выражали в процентах от всей активности, зарегистрированной в тушке животного на весь исследуемый орган (%/орган), а для проб крови на 1 г ткани (%/г). В табл. 4 и 5 представлены полученные результаты динамики распределения РФЛП в организме крыс группы № 1 и группы № 2 соответственно. Содержание РФЛП в пробе выражено в процентах от всей активности, зарегистрированной в тушке животного на весь исследуемый орган (%/орган), а для проб крови — на 1 г ткани (%/г).

Из результатов исследования можно видеть, что в первые 24 ч (в группе № 1) после введения РФЛП в опухолевый очаг в циркулирующей крови и других органах отмечается незначительная радиоактивность, которая затем постепенно снижается. Этот эффект можно объяснить процессом выведения ⁹⁰У из микросфер и его миграции в ионной форме. Наибольшее накопление и прочное удержание РФЛП отмечено для печени, которое достигается практически сразу и остается неизменным на протяжении всего времени исследования.

Из табл. 5 видно, что в течение всех 120 ч после введения препарата крысам наибольшее количество РФЛП было аккумулировано в печени с опухолевым очагом. Меньшее, по сравнению с животными в группе № 1, накопление активности в желудке животных группы № 2 свидетельствует о нарушениях ферментативной функции печени при опухолевом процессе, и, как следствие, о снижении активности воздействия ферментов желудочно-кишечного тракта на микросферы альбумина.

Функциональная пригодность РФЛП определялась по таким характеристиками, как тропность (степень привязанности РФЛП к пораженной ткани печени) и коэффициент дифференциального накопления [9, 10]. Нетаргетными тканями в данном исследовании являлись желудок, легкие и почки, а таргетным — печень с очагом ГЦК.

По полученным данным (табл. 4 и 5) распределение РФЛП в организме крыс с экспериментальными опухолевыми очагами характеризуется легочным шунтированием, не превышающим 8,8% от введенной активности. Незначительное отклонение от значения легочного шунтирования, принятого в качестве критерия функциональной пригодности (5%), не является фатальным и может быть связано с наличием визуально не определяемых микрошунтов у крыс.

В организме крыс с ГЦК накопление препарата в опухолевой ткани печени происходит быстро и практически остается стабильным на протяжении 120 ч. Связывание с опухолевым очагом РФЛП характеризуется удержанием до 75% активности, что дает сделать вывод о тропности препарата к опухолевым очагам ГЦК.

В ходе исследования были рассчитаны: КДН₁ — соотношение накопленных активностей в печени и желудке, КДН₂ — в печени и легких, КДН₃ — в печени и почках, представленные в табл. 6.

Исходя из полученных значений КДН можно предположить, что подведенная терапевтическая доза бета-излучения ⁹⁰У в опухолевом очаге будет существенно выше, чем в остальных органах.

Выводы

1. В результате исследований по разработанной опытно-промышленной технологии были получены образцы РФЛП с заданными физико-химическими характеристиками.

2. В результате изучения терапевтического эффекта и функциональной пригодности РФЛП с лечебной активностью в эквивалентном пересчете на лабораторных животных было показано улучшение общего состояния животных (сохранение двигательной активности, уровня потребления корма и воды, функций пищеварения), и, как следствие, улучшение качества жизни.

3. Наблюдалось увеличение продолжительности жизни животных с имплантированными опухолями печени после введения им РФЛП с ^{90}Y на 7,1% по сравнению с нелечеными животными.

4. Отмечалось снижение скорости развития патологических процессов, затрагивающих органы, выполняющие жизненно важные функции.

5. Максимальное торможение роста опухоли наблюдалось с 15 по 30 сут после введения РФЛП, со-

ставляя ~ 13,3% с замедлением до 7,62% на конец срока наблюдения.

6. В ходе исследования фармакокинетики было установлено, что легочное шунтирование составляет не более 9% от введенной активности, а проброс РФЛП в циркулирующую кровь минимальный.

7. В организме крыс с гепатоцеллюлярной карциномой накопление РФЛП в опухолевом очаге печени происходило быстро и оставалось практически неизменным на протяжении 120 ч.

8. Связывание с опухолевым очагом РФЛП характеризовалось его удержанием до 75% активности, что дает сделать вывод о тропности препарата к опухолевым очагам гепатокарциномы.

Таким образом, изученный радиофармацевтический лекарственный препарат «ДТПА-Микросферы альбумина, 25–40 мкм, ^{90}Y » отвечает заявленным критериям терапевтического действия, как радиофармацевтический лекарственный препарат для внутриартериальной радионуклидной терапии гепатоцеллюлярной карциномы и метастатических поражений.

The Preclinical Test's Results of the Efficiency of the Radiopharmaceutical Preparation "DTPA-Microspheres of Albumin, ^{90}Y "

O.P. Vlasova¹, E.D. Stepchenkova¹, V.M. Petriev^{1,2}, O.E. Klementyeva², D.V. Stepchenkov⁴,
A.S. Krasnoperova³, A.A. Kuznetsov⁴, N.A. Nerozin⁴, S.A. Ivanov¹, A.D. Kaprin¹

¹ A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center, Obninsk, Russia

² National Research Nuclear University MPhI (Moscow Engineering Physics Institute), Moscow, Russia

³ A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

⁴ A.I. Leypunsky Institute for Physics and Power Engineering, Obninsk, Russia

E-mail: somina@inbox.ru

ABSTRACT

Purpose: Development of technology for producing a radiopharmaceutical based on ^{90}Y labeled modified human blood albumin microspheres, and the study of the functional suitability of this drug in experimental animals.

Material and methods: The research team studied the following characteristics of the drug: the distribution and excretion of the drug after its intra-arterial administration; the mechanism of action of the drug in animals with model pathology; therapeutic efficacy of the drug in animals with a liver tumor model. The following physicochemical characteristics of the developed radiopharmaceutical were announced: modified with DTPA and labeled ^{90}Y human blood albumin microspheres, particle size 25–40 microns, radiochemical impurities less than 5.0%, ^{90}Sr radionuclide impurities less than 0.002%, the amount of chemical impurities (Na, Al, Ca, Fe, Cu, Zn, Cd, Pb) not more than 10 μg / GBq, volumetric activity up to 150 mCi / ml at the date of preparation. Sprague Dawley female rats were taken as experimental animals (body weight 220–260 g). Studies were conducted on a model pathology — hepatocellular carcinoma, which occurs in 85% of all malignant tumors of the human liver.

Results: In 2018–2019, 9 pilot batches of the radiopharmaceutical product satisfying the declared characteristics were developed. Stable inhibition of the growth of tumor lesions by 7.6% was noted. The quality of life in animals with orthotopic tumor foci of hepatocarcinoma treated was better than in animals not treated. Life expectancy in the group of animals treated with the drug was higher than in the group of animals that did not receive treatment by 7.1%. The distribution of the drug was characterized by pulmonary bypass, not exceeding 9% of the injected activity and minimal forwarding into the circulating blood. The radiopharmaceutical was firmly held at the injection site and remained almost unchanged throughout the study. Binding to the tumor site of the drug was characterized by retention of at least 78% of the introduced activity.

Conclusion: Conducted preclinical studies of the pharmacokinetics of the drug show its potential suitability for the treatment of liver cancer by radionuclide embolization. According to the results of preclinical studies of the therapeutic effectiveness of the radiopharmaceutical, it should be considered effective for use.

Key words: radiopharmaceutical, albumin microspheres, yttrium-90, liver cancer, radionuclide embolization, preclinical trials, pharmacokinetics, efficiency

For citation: Vlasova OP, Stepchenkova ED, Petriev VM, Klementyeva OE, Stepchenkov DV, Krasnoperova AS, Kuznetsov AA, Nerozin NA, Ivanov SA, Kaprin AD. The Preclinical Test's Results of the Efficiency of the Radiopharmaceutical Preparation "DTPA-Microspheres of Albumin, ^{90}Y ". Medical Radiology and Radiation Safety. 2020;65(5):60–7 (In Russ.).

DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-5-60-67

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2017 г. (заболеваемость и смертность) Под ред. Каприна АД, Старинского ВВ, Петровой ГВ. М., 2018. 250 с. [Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality). Ed by Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. Moscow. 2018 (In Russ.)].
2. Kaprin AD, Mardinskiy YS, Smirnov VP, Ivanov SA, Kostin AA, Polikhov SA, et al. The History of Radiation Therapy (part I). Biomedical Photonics. 2019;8(1):52-62.
3. Подымова СД. Болезни печени: Руководство. 4-е изд. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005, 768 с.: [Podymova SD. Liver Disease: A Guide. 4th ed. Moscow. 2005. 768 p. (In Russ.)].
4. Таразов ПГ. Рентгеноэндovasкулярные вмешательства в лечении первичного рака печени. Практическая онкология. 2008;9(4):209-15. [Tarazov PG. X-ray endovascular interventions in the treatment of primary liver cancer. Practical Oncology. 2008;9(4):209-15. (In Russ.)].
5. Таразов ПГ. Артериальная радиоэмболизация злокачественных опухолей печени микросферами ^{90}Y . Вопросы онкологии. 2013;59(4):428-34. [Tarazov PG. Arterial radioembolization of malignant liver tumors with ^{90}Y microspheres. Oncology Issues. 2013;59(4):428-34. (In Russ.)].
6. Abdelmaksoud MNK, Louie JD, Kothary N, et al. Consolidation of hepatic arterial in flow by embolization of variant hepatic arteries in preparation for yttrium-90 radioembolization. J Vasc Interv Radiol. 2011;22:1364-71.
7. Implantable Beta-Emitting Microspheres for Treatment of Malignant Tumors. United Healthcare® Oxford, Clinical Policy, Policy Number: CANCER 036.9, 2017:2, January 1.
8. Salem R, Lewandowski RJ, Gates VL, Nutting CW, Murthy R, Rose SC, et al. Research Reporting Standards for radioembolization of Hepatic Malignancies. J Vasc Interv Radiol. 2011;22:265-78.
9. Кодина ГЕ, Красикова РН. Методы получения радиофармацевтических препаратов и радионуклидных генераторов для ядерной медицины. М., МЭИ, 2014, 282 с. [Kodina GE, Krasikova RN. Methods for producing radiopharmaceuticals and radionuclide generators for nuclear medicine. Moscow. 2014. 282 p. (In Russ.)].
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012, 244 с. [Guidelines for preclinical studies of drugs. Part I. Ed. A.N. Mironov. Moscow, 2012, 244 p. (In Russ.)].
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. 2-е изд, перераб. и доп. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. [Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Ed by RU Khabriev. 2nd ed. Moscow. 2005. 32 p. (In Russ.)].
12. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приказ Минздрава СССР № 755). М. 1977. [Rules for conducting work using experimental animals (Order of the Ministry of Health of the USSR No. 755). Moscow. 1977. (In Russ.)].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Financing. The study had no sponsorship.

Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.

Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.

Поступила: 15.10.2020. **Принята к публикации:** 11.11.2020.

Article received: 15.10.2020. **Accepted for publication:** 11.11.2020.

Information about the authors:

Klementyeva O.E. <https://orcid.org/0000-0002-6604-0860>.

Lunyova K.A. <https://orcid.org/0000-0002-1256-9873>.

Ternovskaya K.E. <https://orcid.org/0000-0001-9527-0596>.

Krasnoperova A.S. <https://orcid.org/0000-0003-4254-0905>.