

УДК 616-073.916:615.849.2.012

**ВЛИЯНИЕ НОСИТЕЛЯ ГАЛЛИЯ В СОСТАВЕ ПРЕПАРАТА
 ^{68}Ga -ЭТИЛЕНДИАМИНТЕТРАКИС
(МЕТИЛЕНФОСФОНОВАЯ КИСЛОТА)
НА ЕГО ПОВЕДЕНИЕ В ОРГАНИЗМЕ
ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

В. М. Петриев^{1,2}, В. К. Тищенко^{1,2}, Е. Д. Степченкова^{1,2},
И. Н. Завестовская^{2,3}, П. В. Шегай¹, С. А. Иванов¹, А. Д. Каприн¹

Работа посвящена изучению влияния носителя стабильного галлия и его концентрации на биораспределение нового остеотропного соединения на основе N,N,N'N'-этилендиаминтетракис(метиленфосфоновой кислоты) и галлия-68 (^{68}Ga -ЭДТМФ). Исследования выполнялись на интактных крысах Wistar. Показано, что при добавлении носителя накопление активности в костной ткани возрастало, а во внутренних органах и тканях – снижалось. Концентрация носителя не оказывала существенного влияния на содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ в скелете.

Ключевые слова: галлий-68, ЭДТМФ, фосфонаты, остеотропные соединения, носитель галлия.

Введение. Течение многих злокачественных новообразований осложняется развитием костных метастазов, которые могут приводить к возникновению болевого синдрома, появлению патологических переломов, компрессии спинного мозга, гиперкальциемии и др. Поэтому ранняя и точная диагностика скелетных метастазов играет важную роль в определении дальнейшей тактики лечения [1, 2].

Базовым методом визуализации метастатического процесса в костной ткани является остеосцинтиграфия с использованием меченных ^{99m}Tc фосфонатов. Связываясь с

¹ МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 249036 Россия, Калужская область, Обнинск, ул. Королёва, 4; e-mail: petriev@mrrc.obninsk.ru

² НИЯУ «МИФИ», 115409 Россия, Москва, Каширское ш., 31.

³ ФИАН, 119991 Россия, Москва, Ленинский пр-т, 53.

гидроксиапатитом костной ткани, ^{99m}Tc -фосфонаты накапливаются в воспалительно-деструктивных и метастатических очагах скелета, что позволяет визуализировать их как “горячие очаги”.

Более чувствительным методом диагностики костных метастазов является позитронная эмиссионная томография (ПЭТ) с 2- ^{18}F -фтор-2-дезоксид-D-глюкозой (^{18}F -ФДГ) и ^{18}F -фторидом натрия (^{18}F -NaF) [3]. Для получения радионуклида ^{18}F необходимо наличие специального дорогостоящего высокотехнологического оборудования – медицинского циклотрона, который должен находиться либо непосредственно в клинике, либо на доступном для быстрой транспортировки расстоянии ввиду короткого времени жизни изотопа ($T_{1/2} = 110$ мин). Синтез ^{18}F -ФДГ, а также поддержание в рабочем состоянии циклотрона и лаборатории радиосинтеза приводят к высокой стоимости исследования и ограничивают применение метода [4].

Альтернативным радионуклидом для проведения ПЭТ-исследований может стать галлий-68 (^{68}Ga). Он обладает оптимальными ядерно-физическими свойствами ($T_{1/2} = 68$ мин, $\beta^+ = 89\%$, $E_{\beta^+ \text{max}} = 1.9$ МэВ), а получать его можно в ионной форме из коммерчески доступного генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ непосредственно в медицинском учреждении в течение 12–18 месяцев.

Качество получаемого радиофармпрепарата (РФП) и его стабильность зависит от большого числа факторов, таких как концентрация реагентов в реакционной смеси, отсутствие или наличие носителя, pH и ионная сила раствора реагентов, температура и время проведения реакции и др. [5]. Так, добавление носителя и его количество оказывают существенное влияние на стабильность и биораспределение многих остеотропных соединений на основе фосфонатов и различных терапевтических и диагностических радионуклидов [6–13]. В работе [12] добавление носителя существенно увеличивает процент связывания ^{68}Ga -ЭДТМФ с гидроксиапатитом и органическим матриксом человеческой кости *pre vivo*. Аналогичное увеличение связывания с минеральной частью костной ткани отмечается при добавлении носителя в процессе синтеза ^{90}Y -ЭДТМФ [13]. В экспериментах *in vivo* добавление носителя приводит к существенному возрастанию активности в костной ткани [6, 8, 11, 14].

Таким образом, целью данной работы стало изучение влияния носителя стабильного галлия и его концентрации на фармакокинетические свойства N,N,N’N’-этилендиаминтетраakis(метиленфосфоновой кислоты), меченной ^{68}Ga (^{68}Ga -ЭДТМФ) в организме интактных крыс Wistar при однократном внутривенном введении.

Материалы и методы. Изучение фармакокинетики ^{68}Ga -ЭДТМФ проводили на интактных крысах *Wistar* с массой тела 160 ± 40 г. Всего было использовано 48 крыс, поделенных на 4 группы по 12 животных в каждой. Первая группа животных служила контролем: им внутривенно (в хвостовую вену) вводили по 0.37 МБк ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного без добавления носителя, в объеме 0.1 мл. Крысам второй, третьей и четвертой групп внутривенно вводили по 0.37 МБк ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного с добавлением стабильного галлия с концентрацией 0.8 мг/мл, 1.6 мг/мл и 2.4 мг/мл соответственно, в объеме 0.1 мл.

Через определенные интервалы времени (5 мин, 1 и 3 ч) по 4 животных в каждый срок подвергали эвтаназии путем декапитации для получения образца крови, с последующей аутопсией и забором внутренних органов и тканей. Образцы органов и тканей помещали в пластиковые пробирки, взвешивали на электронных весах “Sartorius” (Германия) и проводили радиометрию с помощью автоматического гамма-счетчика “Wizard” версии 2480 фирмы “PerkinElmer/Wallac” (Финляндия). На момент введения в отдельные пробирки отбирали пробы ^{68}Ga -ЭДТМФ в объеме 0.1 мл для использования в качестве стандарта введенной дозы.

По данным радиометрии на каждый срок наблюдения рассчитывали удельную активность ^{68}Ga по отношению к активности образцов-стандартов на 1 г ткани в процентах от введенного количества. Результаты радиометрии обрабатывали, вычисляя среднюю величину и среднеквадратичную ошибку средней величины ($M \pm m$). Кроме этого, были рассчитаны коэффициенты дифференциального накопления (КДН) как частное от деления величин концентрации ^{68}Ga -ЭДТМФ в костной ткани и других органах и тканях. Сравнение уровней накопления радиоактивности в группах по сравнению с контрольной группой проводилось с помощью t -критерия Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0.05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ результатов биораспределения показал, что ^{68}Ga -ЭДТМФ накапливался преимущественно в костной ткани. Представленные на рис. 1 данные демонстрируют влияние носителя стабильного галлия на распределение ^{68}Ga -ЭДТМФ в различных костях. Показано, что при добавлении носителя накопление активности в костной ткани значительно увеличивалось, причем статистически значимые различия отмечались преимущественно в срок 3 ч после введения. При этом наиболее высоким содержанием активности в костях характеризовались ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученные с добавлением Ga с концентрацией 1.6 и 2.4 мг/мл. Так, в кости бедра активность ^{68}Ga -ЭДТМФ (0.8 мг/мл Ga) составила 1.37–4.58%/г, ^{68}Ga -ЭДТМФ (1.6 мг/мл

Ga) – 1.96–6.83%/г, ^{68}Ga -ЭДТМФ (2.4 мг/мл Ga) – 3.56–5.48%/г, тогда как активность ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного без добавления Ga, не превышала 2.23–3.39%/г.

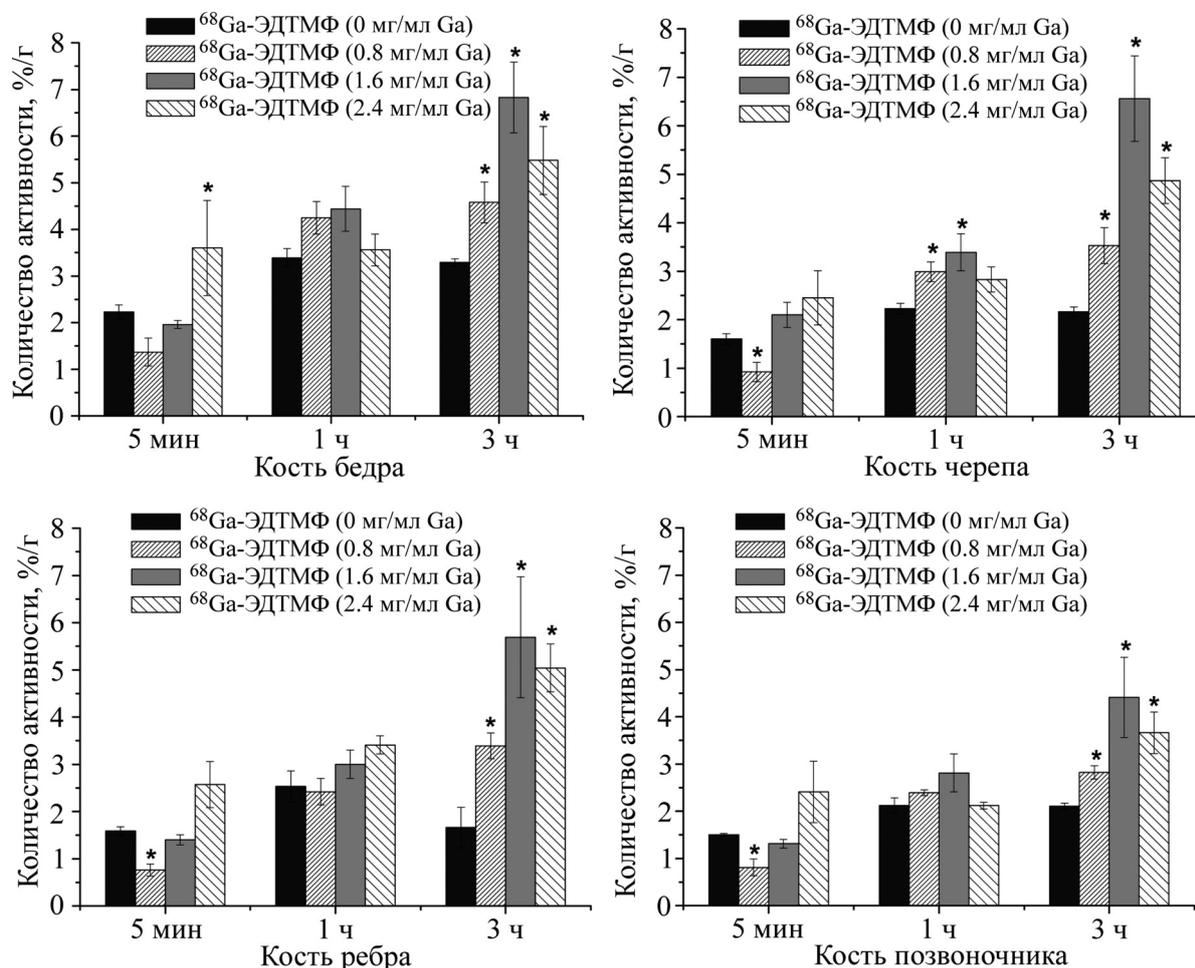


Рис. 1: Сравнительные данные накопления активности в костях интактных крыс Wistar после однократного внутривенного введения ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного с добавлением стабильного галлия различной концентрации; * – $p \leq 0.05$ по сравнению с контрольной группой.

При анализе отношений активностей в бедренной кости к удельному содержанию в крови и мышце (КДН) было установлено, что ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученный без носителя, характеризовался пониженными значениями КДН (табл. 1). Так, соотношения кость бедра/кровь для ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного без носителя, составили 2.37–2.74, в то время как для соединений с носителем эти величины достигали значений 9.89–10.5. Содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного без носителя, в кости бедра превышало его

концентрацию в мышечной ткани в 7.1–17.9 раз, а для ^{68}Ga -ЭДТМФ с носителем – в 50.8–81.1 раз.

Т а б л и ц а 1

Отношения удельного содержания ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного с добавлением стабильного галлия различной концентрации, в кости бедра к удельному содержанию в крови и мышце

		Время после введения препарата		
		5 мин	1 ч	3 ч
Кость бедра/ кровь	^{68}Ga -ЭДТМФ (0 мг/мл Ga)	2.37 ± 0.66	2.55 ± 0.11	2.74 ± 0.20
	^{68}Ga -ЭДТМФ (0.8 мг/мл Ga)	1.06 ± 0.27	8.27 ± 1.24	10.50 ± 1.20
	^{68}Ga -ЭДТМФ (1.6 мг/мл Ga)	0.98 ± 0.14	7.33 ± 1.75	9.89 ± 1.00
	^{68}Ga -ЭДТМФ (2.4 мг/мл Ga)	1.27 ± 0.27	7.53 ± 0.72	10.20 ± 0.90
Кость бедра/ мышца	^{68}Ga -ЭДТМФ (0 мг/мл Ga)	7.10 ± 0.80	17.70 ± 0.90	17.90 ± 1.50
	^{68}Ga -ЭДТМФ (0.8 мг/мл Ga)	5.30 ± 1.78	58.70 ± 10.60	81.10 ± 19.60
	^{68}Ga -ЭДТМФ (1.6 мг/мл Ga)	6.60 ± 1.83	35.10 ± 5.90	50.80 ± 12.30
	^{68}Ga -ЭДТМФ (2.4 мг/мл Ga)	7.30 ± 1.06	53.30 ± 5.70	71.30 ± 21.20

В работе [12] добавление носителя в процессе синтеза ^{68}Ga -ЭДТМФ существенно увеличивало степень связывания ^{68}Ga -ЭДТМФ с гидроксипатитом и компактным веществом костной ткани *in vitro*, причем степень связывания препаратов определялась природой носителя. Предполагается, что добавление носителя может приводить к перегруппировке структуры комплекса или, совместно с радионуклидами, инициировать образование полимерной структуры [15]. Так, в работах [7–9, 11, 16–19] было показано, что добавление носителя увеличивает стабильность и накопление в костной ткани остеотропных препаратов на основе фосфоновых кислот, меченных рением-188.

Добавление носителя стабильного галлия при получении ^{68}Ga -ЭДТМФ снижало содержание активности в крови. Первоначальное содержание активности в крови практически не отличалось для соединений, полученных с носителем и без него. В дальнейшем соединения, полученные с добавлением носителя, быстро выводились из крови, а концентрация ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного без носителя, снижалась незначительно (рис. 2). Таким образом, стабильность ^{68}Ga -ЭДТМФ без носителя ниже, чем с ним. Известно, что несвязанный $^{68}\text{Ga}^{3+}$ связывается с белками плазмы крови – трансферрином, ферритином, лактоферрином и др. [20]. Именно это обуславливает повышенную активность ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного без носителя, в крови.

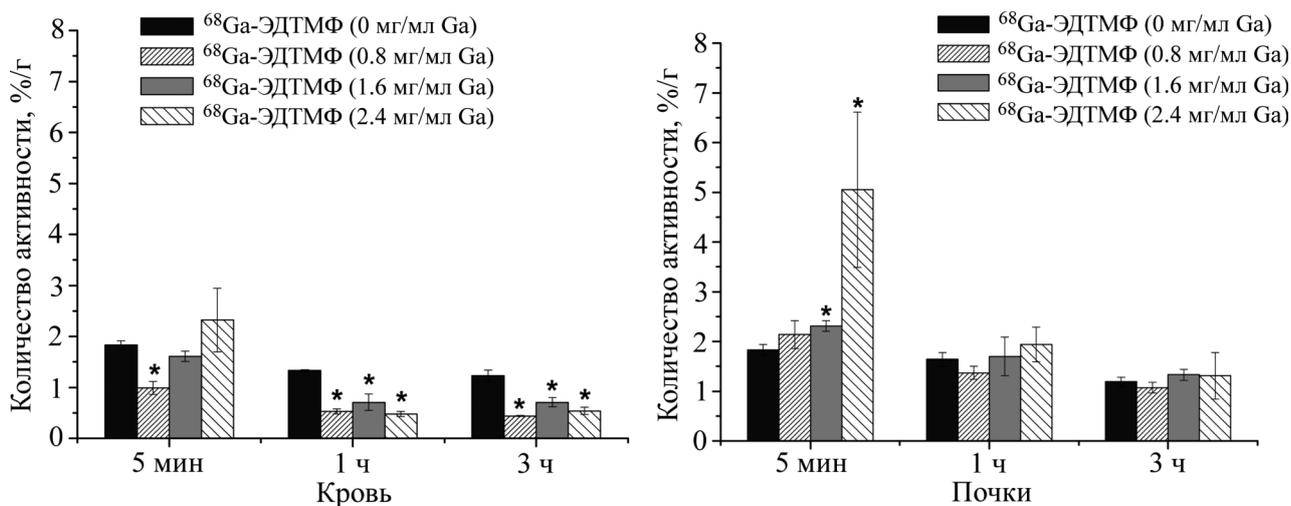


Рис. 2: Сравнительные данные накопления активности в крови и почках интактных крыс Wistar после однократного внутривенного введения ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного с добавлением стабильного галлия различной концентрации; * – $p \leq 0.05$ по сравнению с контрольной группой.

Сравнительно высокое накопление ^{68}Ga -ЭДТМФ было зарегистрировано в почках (рис. 2), что связано с выведением активности в составе фосфонатов через мочевыделительную систему [21]. Содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ (0 мг/мл Ga) снижалось с 18.3%/г до 1.19%/г. Первоначальные концентрации ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученные с добавлением Ga с концентрацией 0.8, 1.6 и 2.4 мг/мл, составили 2.14%/г, 2.31%/г и 5.05%/г соответственно, однако в последующие сроки их активность в почках снижалась и не отличалась от ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного без носителя.

При оценке распределения активности в печени, легких, селезенке, желудке и мышечной ткани следует отметить, что содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного без добавления носителя, выше, чем соединений, синтезированных со стабильным галлием в различных концентрациях. При этом концентрация стабильного галлия в диапазоне 0.8–2.4 мг/мл не оказывала значительного влияния на накопление активности в этих органах.

На протяжении всего эксперимента наблюдалось повышенное содержание активности в желудке (1.19–2.77%/г) при введении ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного без носителя. Транзиторное увеличение концентрации ^{68}Ga -ЭДТМФ, полученного с добавлением 2.4 мг/мл Ga, до 1.25%/г, отмечено в легких через 5 мин после внутривенной инъекции. В остальные сроки удельная активность меченых соединений не превышала 1%/г.

Заключение. Таким образом, добавление носителя стабильного галлия в процессе получения ^{68}Ga -ЭДТМФ оказывало существенное влияние на биораспределение активности в организме интактных крыс *Wistar*. Установлено, что при добавлении носителя содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ в костной ткани возрастало, а во внутренних органах и тканях, напротив, снижалось. Это приводило к увеличению отношений удельного содержания активности в кости бедра к содержанию в крови и мышечной ткани для соединений, полученных с добавлением носителя. При этом рост концентрации носителя с 0.8 до 1.6 и 2.4 мг/мл не оказывал существенного влияния на содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ в скелете.

Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 075–02–2018–097, уникальный идентификатор проекта RFMEFI57518X0174).

Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] А. Д. Каприн, В. Н. Галкин, Л. П. Жаворонков и др., *Радиация и риск* **26**(2), 26 (2017).
- [2] А. Д. Каприн, Ю. С. Мардынский, В. П. Смирнов и др., *Biomedical Photonics* **8**(1), 52 (2019).
- [3] G. J. Cheon, J. K. Chung, Y. K. Kim, et al., *World J. Nucl. Med.* **2**, 18 (2003).
- [4] В. М. Петриев, В. К. Тищенко, Р. Н. Красикова, *Химико-фармацевтический журнал* **50**(4), 3 (2016).
- [5] R. Lange, R. ter Heine, T. van der Gronde, et al., *Eur. J. Pharm. Sciences* **90**, 96 (2016).
- [6] W. Y. Lin, C. P. Lin, S. J. Yeh, et al., *Eur. J. Nucl. Med.* **24**, 590 (1997).
- [7] W. Y. Lin, J. F. Hsieh, C. P. Lin, et al., *Nucl. Med. Biol.* **26**, 455 (1999).
- [8] B. T. Hsieh, J. F. Hsieh, S. C. Tsai, et al., *Nucl. Med. Biol.* **26**, 973 (1999).
- [9] E. Verderera, J. Gaudiano, A. Leon, et al., *Radiochim. Acta.* **79**, 113 (1997).
- [10] M. Y. Nassar, M. T. El-Kolaly, and M. R. H. Mahran, *Radiochem.* **53**(4), 415 (2011).
- [11] В. К. Ширяева, В. М. Петриев, А. А. Брюханова и др., *Химико-фармацевтический журнал* **46**(7), 39 (2012).
- [12] S. Toegel, W. Wadsak, L. K. Mien, et al., *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **68**, 406 (2008).
- [13] S. Toegel, L. K. Mien, W. Wadsak, et al., *Nucl. Med. Biol.* **33**(1), 95 (2006).
- [14] S. Pervez, A. Mushtag, M. Arif, et al., *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **257**, 417 (2003).

- [15] R. C. Elder, J. Yuan, B. Helmer, et al., *Inorg. Chem.* **36**, 3055 (1997).
- [16] K. Hashimoto, *Appl. Radiat. Isot.* **49**, 351 (1998).
- [17] A. D. Kaprin, V. N. Galkin, L. P. Zhavoronkov, et al., *Radiation and risk.* **36**(2), 26 (2017).
- [18] A. D. Kaprin, Y. S. Mardinskiy, V. P. Smirnov, et al., *Biomedical Photonics* **8**(1), 52 (2019).
- [19] В. М. Петриев, В. К. Тищенко, О. А. Сморгызанова и др., *Краткие сообщения по физике ФИАН* **46**(2), 31 (2019).
- [20] A. Autio, H. Virtanen, T. Tolvanen, et al., *EJNMMI Research* **5**, 40 (2015).
- [21] В. К. Тищенко, В. М. Петриев, В. Г. Скворцов, *Химико-фармацевтический журнал* **49**(7), 3 (2015).

Поступила в редакцию 7 июня 2019 г.

После доработки 11 октября 2019 г.

Принята к публикации 14 октября 2019 г.