

УДК: 615.277.3: 616-006.38: 616-092.9

Разработка дизайна доклинических испытаний радиофармпрепаратов для диагностики и терапии на основе пептида AMBA

©2020. А.А. Станжевский¹, А.А. Мосунов², Л.А. Чипига^{*1,3,4}, А.В. Водоватов^{3,5},
Л.Н. Наурзбаева², С.М. Кушнаренок², Д.Д. Лаврешов², А.Е. Петрова²

¹ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
имени академика А.М. Гранова, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт радиационной гигиены
имени профессора П.В. Рамзаева, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

⁵ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: larisa.chipiga@gmail.com

Поступила в редакцию 03.12.2020 г.

После доработки 15.12.2020 г.

Принята к публикации 24.12.2020 г.

Настоящее исследование связано с одним из перспективных направлений ядерной медицины: использование пептидов – аналогов бомбезина, меченных ⁶⁸Ga для диагностики и ¹⁷⁷Lu для терапии рака предстательной железы. В Российской Федерации проведение подобных доклинических испытаний радиофармацевтических лекарственных препаратов находится на стадии разработки дизайна исследования.

Целью данной работы являлась разработка дизайна доклинических испытаний радиофармацевтических лекарственных препаратов для оценки биораспределения пептида – аналога бомбезина, предназначенного для диагностики и терапии РПЖ.

Исследование проведено на основе анализа материалов, опубликованных в рецензируемых научных журналах. Отбор публикаций был осуществлен с использованием системы PubMed Central по ключевым словам: radionuclide therapy, nuclear medicine, AMBA, ⁶⁸Ga и ¹⁷⁷Lu. Была выполнена сравнительная оценка выборок животных/пациентов, методик сбора и регистрации данных и результатов накопления РФЛП в очагах и радиочувствительных органах и тканях.

Результаты исследования позволили установить минимальные требования к объему выборки экспериментальных животных (не менее 30 особей для каждого РФЛП), регистрации накопленной активности (прямая радиометрия и позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ)) и временным точкам (не менее пяти замеров в течение 120–240 минут для РФЛП, меченного ⁶⁸Ga, и пяти замеров в течение 336 часов для РФЛП, меченного ¹⁷⁷Lu) для оценки биораспределения РФЛП.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биораспределение РФЛП; дизайн доклинических исследований; радионуклидная терапия; радионуклидная диагностика; ядерная медицина; использование пептидов; экспериментальные животные; злокачественные новообразования

DOI: 10.17816/phf52958/2713-153X-2020-4-2-60-71

СОКРАЩЕНИЯ:

РФЛП – радиофармацевтические лекарственные препараты;

ПСМА – простатоспецифический мембранный антиген;

РПЖ – рак предстательной железы;

GRP – гастрин-рилизинг пептид;

GRPR – рецептор гастрин-рилизинг пептида;

ПЦР – полимеразная цепная реакция;

AMBA – пептиды – аналоги бомбезина;

VOI – представляющие интерес объемы;

ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография;

ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография;

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт.

ВВЕДЕНИЕ

Прошло более 25 лет после первого использования ^{111}In -пентетреотида в отделении ядерной медицины медицинского центра Erasmus (Роттердам) [1]. За это время спектр РФЛП для пептидной рецепторной терапии нейроэндокринных опухолей существенно увеличился, а накопленный опыт распространяется на другие гистологические типы опухолей [2, 3]. Наиболее яркими примерами этого являются радиолгандная терапия простатоспецифическим мембранным антигеном (ПСМА) для лечения РПЖ или CXCR4-направленная эндорадитерапия при злокачественных новообразованиях, экспрессирующих хемокиновые рецепторы, – относительно новый маркер РПЖ.

ПСМА представляет собой мембранный гликопротеин, высокий уровень экспрессии которого отмечается, прежде всего, в клетках РПЖ и его метастазах. ПСМА также известен как фолатгидролаза I, глутаматкарбоксипептидаза II – интегральный мембранный протеин с молекулярной массой около 100 кД, впервые обнаруженный в клетках РПЖ линии LNCaP [4]. Антиген в норме экспрессируется на мембранах клеток предстательной железы. Повышенная экспрессия ПСМА наблюдается в клетках целого ряда злокачественных новообразований, в том числе в первичной опухоли и метастазах РПЖ [3–6].

В настоящее время в зарубежной литературе широко представлены результаты доклинических и клинических исследований РФЛП на основе молекул-ингибиторов ПСМА, меченных различными изотопами: ^{11}C , ^{18}F , ^{123}I , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{68}Ga [7]. В клинике для диагностики, определения распространенности РПЖ, а также прогнозирования ответа на радионуклидную рецепторную терапию и оценку ее эффективности наиболее часто применяются РФЛП на основе ПСМА, меченные ^{68}Ga или ^{18}F [7, 8]. При этом известно, что часть опухолей (около 15%) не экспрессируют рецепторы ПСМА и, соответственно, не визуализируются с помощью ПЭТ, а также являются нечувствительными к ПСМА радионуклидной терапии [8]. При этом экспрессия ПСМА находится в обратной корреляции со степенью дифференцировки опухолевых клеток.

Таким образом, на мембранах высокодифференцированных клеток РПЖ ПСМА рецепторы могут отсутствовать либо экспрессироваться в незначительном количестве. Это диктует необходимость поиска новых мишеней для диагностики терапии РПЖ [9].

Многообещающей альтернативой ПСМА диагностике и терапии является использование AMBA, меченных ^{68}Ga или ^{177}Lu [9, 10]. Бомбезин представляет собой аналог гастрин-рилизинг пептида (GRP). Рецептор гастрин-рилизинг пептида (GRPR) представляет собой связанный с G белком рецептор, экспрессируемый в различных органах млекопитающих, особенно в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) и поджелудочной железе [11]. После связывания с лиганд-гастрин-рилизинг пептидом GRPR может активировать и вызывать экзокринную или эндокринную секрецию для регуляции множества физиологических процессов [12].

Примечательно, что сверхэкспрессия GRPR представлена в нескольких типах опухолей: предстательной железы, мочевых путей, желудочно-кишечных стром, молочной железы и легких, – и связана с пролиферацией и ростом этих злокачественных новообразований [13]. В частности, GRPR почти на 100% экспрессируется в клинических образцах РПЖ, исследованных с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуногистохимии или анализов связывания

радионуклидов, что делает этот рецептор привлекательной мишенью для визуализации и терапии РПЖ.

Наиболее перспективным аналогом бомбезина в качестве предшественника РФЛП, показавшим наилучшие фармакокинетические свойства, является $\text{NH-CH}_2\text{-CO-[4-аминобензоил]-QWAVGHLM-NH}_2$. Внедрение РФЛП для ПЭТ и радионуклидной терапии на основе данного предшественника позволит существенно расширить возможности диагностики и лечения РПЖ [14].

На сегодняшний день информация по методикам применения пептидов – аналогов бомбезина крайне ограничена в связи с тем, что большинство исследований все еще находится на стадии клинических или доклинических испытаний.

Для успешной разработки и применения отечественных РФЛП, содержащих AMBA, меченных ^{68}Ga или ^{177}Lu , в целях диагностики и терапии необходимо:

- оценить биораспределение препаратов в организме человека или животного;
- разработать фармакокинетические модели;
- на их основе выполнить оценку накопленной активности в опухолевых очагах и поглощенных доз в радиочувствительных органах и тканях.

Это, в свою очередь, позволит провести проспективную оценку доз облучения пациентов, участвующих в клинических испытаниях РФЛП.

Целью данной работы является обзор доступных исследований по биораспределению AMBA для разработки требований к методике сбора данных, необходимых для оценки накопления РФЛП на основе ^{68}Ga и ^{177}Lu в организме животных и человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе был выполнен анализ исследований, опубликованных в рецензируемых научных журналах. Отбор публикаций проводился с использованием системы PubMed Central по ключевым словам: radionuclide therapy, nuclear medicine, AMBA, ^{68}Ga и ^{177}Lu . Для каждого литературного источника оценивались следующие параметры: дизайн исследования, методика сбора и регистрации данных, результаты накопления РФЛП в очаге мишени и радиочувствительных органах и тканях.

Сводная информация о дизайне исследований представлена в табл. 1–3.

Как следует из табл. 1–3, рассмотренные исследования существенно отличаются между собой по своему дизайну:

- экспериментальные выборки не являются репрезентативными (3–24 особи, около 10 особей в среднем), что не позволяет полностью устранить эффекты индивидуальной радиочувствительности к вводимому РФЛП, особенности метаболизма;
- опухоли варьируют по своему типу, объему и локализации, что безусловно сказывается на биораспределении введенного РФЛП;
- исследования не гармонизированы друг с другом по временным точкам регистрации данных, методам регистрации данных, вводимым активностям и концентрации РФЛП; не представлены сведения о соотношении активности, вводимых животным, к активностям, предполагаемым для введения пациентам для диагностики и терапии;
- для проведения не прямой радиометрии были использованы специальные системы для животных (MicroPET

Характеристика экспериментальных выборок животных/пациентов
 Characteristics of the experimental samples of animals/patients

Табл. 1.

Table 1.

Источник [Source]	РФЛП [Radiopharmaceutical]	Объект исследования [Object of study]	Возраст [Age]	Характеристика нозологии, размер опухоли [Characteristics of nosology, tumor size]	Локализация [Localization]	Объем выборки, шт. [Sample size, pieces]
Schroeder, et al. 2011 [15]	^{68}Ga -AMBA	Мыши NMRI nude spontaneous mutant (Taconic Denmark) [Mouse]	6–7 недель [weeks]	VCaP, 200–600 мм ³ [mm ³]	Правое плечо [Right shoulder]	8
				PC-3	Правое плечо [Right shoulder]	3
Dam, et al. 2016 [16]	^{68}Ga -NOTA-AMBA	Мыши C.B-17 SCID spontaneous mutant (Taconic Denmark) [Mouse]	7–11 недель [weeks]	PC-3, 8–12 мм [mm]	Правый бок [Right side]	8
Pandey, et al. 2016 [17]	^{68}Ga -AMBA	Здоровые швейцарские мыши [Healthy swiss mice]	-*	-*	-*	8
Prignon, et al. 2015 [18]	^{68}Ga -AMBA	Мыши S/SOPF swiss Nu/Nu (Charles River) [Mouse]	5–6 недель [weeks]	Гранулы 17 β -эстрадиола (E2) [17 β -estradiol (E2) granules]	Шея [Neck]	10
				ZR75-1, 8 \times 106 клеток [cells]	Правый бок [Right side]	
Layman, et al. 2013 [19]	^{68}Ga -AMBA	Мыши NCr nude spontaneous mutant (Taconic Farms Inc.) [Mouse]	6–8 недель [weeks]	PC-3	Подкожно [Subcutaneously]	10
Baum, et al. 2007 [20]	^{68}Ga -AMBA	Человек [human]	58 \pm 10,6 лет [years]	гистологически подтвержденные злокачественные новообразования (медуллярной щитовидной железы, предстательной железы, толстого кишечника и молочной железы, матки) [histologically confirmed tumors (thyroid, prostate, large intestine and breast, uterus)]	-*	10
Maddalena, et al. 2009 [21]	^{177}Lu -AMBA	Мыши NCr nude spontaneous mutant (Taconic Farms Inc.) [Mouse]	4–5 недель [weeks]	LNCaP (594 мг) или DU145 (485 мг) [LNCaP (594 mg) or DU145 (485 mg)]	Правый бок [Right side]	13
Liu, et al. 2010 [22]	^{177}Lu -AMBA	Мыши SCID (Тайбэй, Тайвань, Китай) [Mouse (Taipei, Taiwan, China)]	4 недели [weeks]	PC-3M-luc-C6, 0,01 – 0,2 г [g]	Правый бок [Right side]	24

* данные в литературном источнике отсутствуют

* data is absent in the literature source

Диапазоны вводимых активностей, дозировки РФЛП
The range of injected activities, dosage of radiopharmaceuticals

Табл. 2.
Table 2.

Источник [Source]	РФЛП [Radiopharmaceutical]	Дозировка РФЛП [Dosage of radiopharmaceutical]	Активность радионуклида в РФЛП [Radionuclide activity in a radiopharmaceutical]	Способ введения [Method of injection]
Schroeder, et al. 2011 [15]	^{68}Ga -AMBA	300 пмоль/100 мкл [pmole/ μl]	1,5–0,5 МБк [MBq]	В хвостовую вену [Into the tail vein]
Dam, et al. 2016 [16]	^{68}Ga -NOTA-AMBA	29,5 \pm 9,9 пмоль [pmole] 0,29 \pm 0,04 нмоль [nmole]	250 \pm 100 кБк [kBq] 6,07 \pm 1,1 МБк [MBq]	В хвостовую вену [Into the tail vein]
Pandey, et al. 2016 [17]	^{68}Ga -AMBA	0,1 мл [ml]	~740 кБк [kBq]	В хвостовую вену [Into the tail vein]
Prignon, et al. 2015 [18]	^{68}Ga -AMBA	430 \pm 9 пмоль [pmole]	2,14 \pm 0,56 МБк [MBq]	-*
Layman, et al. 2013 [19]	^{68}Ga -AMBA	-*	3,7 МБк [MBq]	В хвостовую вену [Into the tail vein]
Baum, et al. 2007 [20]	^{68}Ga -AMBA	25–50 мкг [μg]	160 МБк [MBq]	-*
Maddalena, et al. 2009 [21]	^{177}Lu -AMBA	0,1 мл; 118,4 ГБк/ммоль; масса пептида 0,32 мг/м ² [0,1 ml; 118,4 GBq/mmole; peptide mass 0,32 mg/m ²]	0,185 МБк [MBq]	В боковую хвостовую вену [Into the lateral tail vein]
Liu, et al. 2010 [22]	^{177}Lu -AMBA	0,1 мкг в 80 мкл 0,9% хлорида натрия [μg in μl of sodium chloride]	0,37 МБк [MBq] 14,8 МБк/0,95 мкг [MBq/ μg]	В хвостовую вену [Into the tail vein]

* данные в литературном источнике отсутствуют
* data is absent in the literature source

Методы сбора и регистрации данных
Acquisition and reconstruction methods

Табл. 3.
Table 3.

Источник [Source]	РФЛП [Radiopharmaceutical]	Способ регистрации [Registration method]	Оборудование [Equipment]	Временные точки после введения [Time points after injection]	Характеристики протокола регистрации [Registration protocol characteristics]
Schroeder, et al. 2011 [15]	^{68}Ga -AMBA	ПЭТ/КТ [PET/CT]	Siemens INVEON	0–30 мин [min]	Реконструкция методами 2DFBP и OSEM3D/MAP [Reconstruction by methods 2DFBP and OSEM3D/MAP]
		Гамма-счетчик [Gamma counter]	Perkin Elmer Compugamma LKB1282	60 мин [min]	-*
Dam, et al. 2016 [16]	^{68}Ga -NOTA-AMBA	ПЭТ/КТ [PET/CT]	Siemens INVEON	0–90 мин [min], 4 и 24 часа [hr]	Реконструкция методом OSEM3D/MAP [Reconstruction by methods OSEM3D/MAP]
		Гамма-счетчик, счетчик лунок [Gamma counter, hole counter]	Perkin Elmer 2470 Wizard Atomlab 950	1 и 4 часа [hr]	-*
Pandey, et al. 2016 [17]	^{68}Ga -AMBA	Сцинтилляционный детектор [Scintillation detector]	NaI (Tl)	1 час [hr]	-*

Продолжение на следующей стр.

Начало на предыдущей стр.

Prignon, et al. 2015 [18]	^{68}Ga -AMBA	Гамма-счетчик [Gamma counter]	Perkin Elmer 1480 Wizard 3	1 час [hr]	Корректировка с учетом распада радионуклида [Correction taking into account radio- nuclide decay]
	^{68}Ga -AMBA	ПЭТ/КТ [PET/CT]	Siemens INVEON	1 и 3 часа [hr]	Реконструкция методом 2D OSEM [Reconstruction by methods 2D OSEM]
Layman, et al. 2013 [19]	^{68}Ga -AMBA	Гамма-счетчик [Gamma counter]	Perkin Elmer 2470 Wizard	1 и 24 часа [hr]	проводилось при 511 кэВ с симметричным энергетическим окном [was carried out at 511 keV with a symmetric energy window]
Baum et al. 2007 [20]	^{68}Ga -AMBA	ПЭТ/КТ [PET/CT]	GE Healthcare	60–90 мин [min]	-*
Maddalena et al. 2009 [21]	^{177}Lu -AMBA	Гамма-счетчик [Gamma counter]	Perkin Elmer 1480 Wizard 3	1 час и 24 часа [hr]	-*
		Гамма-счетчик [Gamma counter]	Perkin-Elmer Packard Cobra II	30 мин [min], 1, 4, 8, 24 и 48 часов [hr]	-*
Liu et al. 2010 [22]	^{177}Lu -AMBA	ОФЭКТ/КТ [SPECT/ CT]	Gamma Medica XSPECT	1, 4, 8, 24 и 48 часов [hr]	(3-D) алгоритм конусной балки Фельдкампа (КТ), (2-D) алгоритм обратной проекции с фильтром(ОФЭКТ) [(3-D) Feldkamp Taper Beam (CT), (2-D) Filtered Rear Projection (SPECT)]

* данные в литературном источнике отсутствуют.

* data is absent in the literature source.

scanner Siemens INVEON [15, 16, 19], microSPECT/CT scanner system Gamma Medica XSPECT [13]), что крайне затруднительно реализовать в России в связи с малым числом таких специализированных систем ПЭТ и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ);

– отсутствуют сведения о калибровке оборудования для прямой радиометрии, а также методики пробоподготовки, что особенно актуально для интерпретации результатов измерения активности в органах целиком [15–17, 21, 23].

Представленные различия в дизайне исследований делают крайне затруднительной достоверную сравнительную оценку полученных данных.

Накопленные активности в рассмотренных работах измеряли методом непрямой радиометрии с использованием современных диагностических систем ПЭТ и ОФЭКТ, а также методом прямой радиометрии (табл. 3). При прямой радиометрии животных умерщвляли через интервалы, соответствующие необходимым временным точкам, извлекали и взвешивали необходимые органы и измеряли активность радионуклида в каждом из органов с использованием различных гамма-счетчиков (табл. 3).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты измерений, как правило, приводились в виде процента от введенной активности, нормированного на грамм ткани (%ID/g) [15–19, 21, 23], или как процент от введенной активности, накопленный в данном органе к мо-

менту измерения (%ID) [19]. Результаты оценки накопленных активностей радионуклидов ^{68}Ga и ^{177}Lu в РФЛП в органах и тканях представлены в табл. 4–6, соответственно.

В работе Dam, et al. 2016 [16] использовали NOTA-AMBA, меченный ^{68}Ga . По результатам ПЭТ опухоль PC-3 четко определялась на протяжении всего времени сканирования. Максимальное накопление в опухоли было зафиксировано через 20 минут после введения РФЛП. Меченный пептид быстро выводился из кровотока, высокое накопление наблюдалось в GRPR-положительных тканях: в поджелудочной железе, желудке, надпочечниках, кишечнике и опухоли. Поскольку основным путем выведения является мочевыводящая система, умеренное накопление наблюдалось в почках. Первоначальное накопление ^{68}Ga -NOTA-AMBA отмечалось в опухоли (10,3%ID/g) через час и снижалось до 6,4%ID/g через четыре часа. Данные о биораспределении представлены в табл. 4.

В работе Pandey, et al. 2016 [17] было показано, что значительное накопление пептида AMBA, меченного ^{68}Ga , было обнаружено в поджелудочной железе –15,5%ID/g (табл. 4). Накопление в поджелудочной железе подтвердило специфичность препарата в отношении рецепторов GRP. Накопление ^{68}Ga -AMBA в крови, печени и других органах было незначительным. У животных, которым дополнительно ввели «холодный» пептид (не меченный радионуклидом), накопление в поджелудочной железе значительно снизилось (до 3,5%ID/g), что подтверждает

Сравнительная оценка параметров биораспределения ^{68}Ga -AMBA для данных, полученных путем прямой радиометрии

Табл. 4.

Table 4.

Comparison of the biodistribution parameters of ^{68}Ga -AMBA for data obtained by direct radiometry

Орган [Organ]	Время, ч [Time, h]	Schroeder RPJ, et al, 2011, опухоль VCaP %ID/g [15] [VCaP tumor %ID/g]	Dam JH, et al, 2016, %ID/g [16] [%ID/g]	Pandey U, et al, 2016, %ID/g [17] [%ID/g]	Prignon A, et al, 2015, %ID/g [18] [%ID/g]	Объединенная выборка, ср. (мин. – макс.) [Combined sample, mean (min-max)]		
						ср. [mean]	мин. [min]	макс. [max]
Печень [Liver]	1	0,9	0,32	1,4	0,72	0,83	0,32	1,4
	4		0,16			0,16		
Почки [Kidney]	1	2,2	4,52	3,7	3,8	3,56	2,2	4,52
	4		2,26			2,26		
Кровь [Blood]	1	0,8	0,32	0,7	0,73	0,64	0,32	0,8
	4		0,06			0,06		
Поджелудочная железа [Pancreas]	1	57,5	120,65	15,5	23,96	54,40	15,50	120,65
	4		87,74			87,74		
Опухоль [Tumor]	1	9,5	10,3			9,9		
	4		6,4			6,4		
Толстая кишка [Large intestine]	1	8,5	27,74			18,12		
	4		19,84			19,84		
Тонкая кишка [Small intestine]	1		11,94			8,39		
	4		9,68			9,68		
Кишечник [Intestines]	1			16,4	1,61	9,01		
Желудок [Stomach]	1		15,48	0,8	0,87	5,72	0,8	15,48
	4		9,84			9,84		
Селезенка [Spleen]	1		1,613	0,2	0,78	0,86	0,2	1,61
	4		1,29			1,29		
Легкие [Lung]	1		1,29	1,8	0,48	1,19	0,48	1,8
	4		0,32			0,32		
Мышцы [Muscle]	1	0,7		0,4		0,55		

специфичность ^{68}Ga -AMBA, дополненного «холодным» пептидом.

Результаты, представленные в работе Prignon, et al. 2015 [18] показали, что наибольшее накопление ^{68}Ga -AMBA наблюдалось в поджелудочной железе в соответствии с высокой экспрессией рецепторов GRP (GRPRs) в этом органе (табл. 4). Это отражает эффективность меченого радионуклидом аналога бомбезина в отношении GRPR.

Результаты, представленные в табл. 4, свидетельствуют о значительных (вплоть до 20 раз) расхождениях накопленных активностей в радиочувствительных органах и тканях, полученных в разных работах. Максимальные накопленные активности были зарегистрированы в поджелудочной железе, кишечнике и почках. Для желудка, селезенки и крови представлены крайне несогласованные результаты.

При оценке биораспределения РФЛП, меченого ^{68}Ga , в статьях Schroeder, et al. 2011 [15] и Baum, et al. 2007 [20] методом ПЭТ количественную оценку накопления РФЛП проводили по полученным ПЭТ-изображениям путем ручного

обрисовывания представляющих интерес объемов в заранее выбранных органах (почки и мочевой пузырь) и опухолях. В статье Schroeder, et al. 2011 [15] для количественной оценки накопленной в органах активности определяли объемную активность в представляющих интерес объемах (VOI) (МБк/мл), относили ее ко всей общей введенной активности и нормировали на грамм ткани. В статье Baum, et al. 2007 [20] количественно накопленную активность ^{68}Ga определяли с использованием максимального стандартизованного уровня накопления РФЛП в VOI (SUV_{max}, в г/мл).

$$SUV_{max} = \frac{\text{максимальная объемная активность в опухоли (Бк/мл)} \times \text{масса тела (г)}}{\text{введенная активность (Бк)}}$$

Результаты оценки накопленных активностей радионуклидов ^{68}Ga в РФЛП в органах и тканях, полученные на основании ПЭТ, представлены в табл. 5. Максимальное накопление РФЛП наблюдалось в поджелудочной железе, ЖКТ и почках. К сожалению, ограниченное количество временных точек не позволяет сделать более конкретные выводы.

Биораспределение ^{68}Ga -AMBA, полученное с использованием ПЭТ

Табл. 5.

Table 5.

Biodistribution of ^{68}Ga -AMBA obtained by PET

Орган [Organ]	Время, мин [Time, min]	Schroeder RPJ, et al, 2011, опухоль VCaP %ID/r [15] [VCaP tumor %ID/g]	Layman, et al, 2013, %ID [19] [%ID]	Layman, et al, 2013, %ID/r [19] [%ID/g]	Baum RP, et al, 2007 (человек, SUVmax) [human, SUVmax] [20]
Печень [Liver]	60		23,17		1,44
	180		20,18		
	15	20,45			
	20	65,9			
Почки [Kidney]	25	90,9			9,34
	30	106,82			
	60		8,56		
	180		14,00		
Кровь [Blood]	180			1,31	
Поджелудочная железа [Pancreas]	60				89,6
	180		1,89		
	0,5	1,1			
	5	3,75			
Опухоль [Tumor]	10	5,9			
	15	6,25			
	20	6,3			
	25	6,43			
	30	5,53			
	60			3,23	
	180			10,73	
	0,5	5,55			
	5	8,33			
	10	16,11			
	15	20,00			
	20	19,44			
Мочевой пузырь [Bladder]	25	16,67			
	30	16,11			
	60		0,70		
	180		5,61		
Толстая кишка [Large intestine]	60		6,58		
	180		15,44		
	1440				
	60				
Тонкая кишка [Small intestine]	60				4,84
Селезенка [Spleen]	60				1,44
Легкие [Lung]	60				0,75
Мышцы [Muscle]	60			1,07	0,94
	180			0,77	
Кожа [Skin]	60		0,21		
	180		0,81		

В работе Schroeder, et al. 2011 [15] при использовании ^{68}Ga -AMBA все опухоли VCaP и PC-3 были четко определены с помощью ПЭТ. Высокое накопление наблюдалось в опухолевой ткани, а также в GRPR-положительной ткани поджелудочной железы и в органах, отвечающих за выведение (почки и мочевого пузыря), в то время как накопление в остальных органах было низким. Динамическое накопление в опухоли VCaP, мочевом пузыре и почках с течением времени представлено в табл. 5. Отмечена высокая скорость накопления в опухоли, достигающая пиковых значений в течение 3–5 минут и выходящая на плато примерно через 20 минут после введения.

В опухоли VCaP накопление ^{68}Ga -AMBA составило 6,7 %ID/g. Также было получено накопление в опухоли PC-3 примерно через 20 минут после введения – 9,2%ID/g. Выведение из почек ^{68}Ga -AMBA росло со временем, что привело к накоплению в мочевом пузыре через десять минут после введения. Накопление ^{68}Ga -AMBA в опухолях VCaP через 60 минут составило 9,5%ID/g, высокое накопление было отмечено в GRPR-положительной поджелудочной железе (57,5%ID/g). Накопление ^{68}Ga -AMBA в толстом кишечнике было 8,5%ID/g, в почках – 2,2%ID/g, при низком уровне накопления в крови – 0,5%ID/g. Также было зафиксировано накопление в других органах, в сердце оно составило 0,2%ID/g ткани, в печени 0,9%ID/g. Данные о биораспределении для животных с опухолью VCaP представлены в табл. 4 и 5.

В работе Layman, et al. 2013 [19] результаты оценки, полученные при использовании микроПЭТ сканера, проде-

монстрировали быстрое накопление в печени – 23,17%ID за час и дальнейшее поддержание на уровне 20,8%ID до трех часов, что связано со свободным ^{68}Ga . Также наблюдалось довольно высокое накопление в ЖКТ и почках через три часа – 15,44 и 14,00%ID, соответственно. Максимальное накопление в опухоли (10,73%ID) было отмечено через три часа после введения. Данные о биораспределении представлены в табл. 5.

В работе Baum, et al. 2007 [20] по результатам ПЭТ-сканирования было получено высокое накопление ^{68}Ga -AMBA в поджелудочной железе (SUV до 54,9), слабое поглощение в пищевод-желудочном соединении, низкое накопление в других органах и очень быстрое выведение из почек. Дополнительно в работе было определено биораспределение ^{68}Ga -AMBA (SUVmax) для остальных органов, не вошедших в сравнительную табл. 5: головной мозг – 0,44, гипофиз – 1,22, щитовидная железа – 1,11, левый желудочек – 2,18, пищеводно-желудочное соединение – 3,68, легкие – 0,75, левая почка/правая почка – 4,6/4,74, хвост/тело/головка поджелудочной железы – 28,25/29/32,35, печень – 1,44, селезенка – 1,44, тонкая кишка – 4,84, восходящая ободочная кишка – 3,44, средняя ягодичная мышца – 0,94, молочная железа – 1,15. Обобщенные данные для сравнения представлены в табл. 5.

Результаты оценки биораспределения ^{177}Lu -AMBA представлены в табл. 6.

Сравнительная оценка параметров биораспределения ^{177}Lu -AMBA
Comparison of the biodistribution parameters of ^{177}Lu -AMBA

Табл. 6.

Table 6.

Орган [Organ]	Время, ч [Time, h]	Maddalena ME, et al. 2009 (опухоль DU145, %ID/r) [21] [tumor DU145, %ID/g]	Maddalena ME, et al. 2009 (опухоль LNCaP, %ID/r) [21] [tumor LNCaP, %ID/g]	Lantry LE, et al. 2006 (опухоль PC-3, %ID/r) [13] [tumor PC-3, %ID/g]	Liu I, et al. 2010*, %ID/g [22] [%ID/g]	Объединенная выборка, ср. (мин. – макс.) [Combined sample, mean (min-max)]		
						ср. [mean]	мин. [min]	макс. [max]
Печень [Liver]	0,5				0,91	0,91		
	1	0,24	0,21	0,25	0,58	0,32	0,21	0,58
	4				0,49	0,49		
	8				0,24	0,24		
	24	0,08	0,07	0,21	0,25	0,15	0,07	0,25
	48				0,21	0,21		
Почки [Kidney]	0,5				8,07	8,07		
	1	4,21	2,84	2,95	6,05	4,01	2,84	6,05
	4				4,7	4,7		
	8				5,22	5,22		
	24	0,92	1,09	0,91	3,52	1,61	0,91	3,52
	48				2,17	2,17		
Опухоль [Tumor]	0,5				2,33	2,33		
	1	0,95	1,52	6,35	1,07	2,47	0,95	6,35
	4				0,88	0,88		
	8				0,73	0,73		
	24	0,52	0,83	3,39	0,45	1,30	0,45	3,39
	48				0,33	0,33		

Продолжение на следующей стр.

Начало на предыдущей стр.

	0,5				18,5	18,50		
Поджелудочная железа [Pancreas]	1	17,14	14,65	17,78	19	17,14	14,65	19
	4				25,6	25,60		
	8				15,9	15,90		
	24	12,41	11,86	12,28	10,5	11,76	10,5	12,41
	48				7,81	7,81		
Мышцы [Muscle]	0,5				0,53	0,53		
	1	0,1	0,08	0,09	0,32	0,15	0,08	0,32
	4				0,02	0,02		
	8				0,04	0,04		
	24	0,01	0,02	0,03	0,03	0,02	0,01	0,03
Кровь [Blood]	48				0,01	0,01		
	0,5				2,01	2,01		
	1	0,2	0,16	0,46	0,69	0,38	0,16	0,69
	4				0,04	0,04		
	8				0,02	0,02		
ЖКТ [GIT]	24	0,01	0,01	0,03	0,01	0,02	0,01	0,03
	48				0	0		
	0,5				5,57	5,57		
	1	10,91	15,19	11,22	4,37	10,42	4,37	15,19
	4				6,91	6,91		
ЖКТ [GIT]	8				2,97	2,97		
	24	5,17	7,21	5,77	1,98	5,03	1,98	7,21
	48				1,1	1,1		

* Данные для желудка, тонкого кишечника и толстого кишечника были суммированы и приведены как данные для желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

* Data for stomach, small intestine and large intestine were summarized and presented as data for gastrointestinal tract (GIT).

В работе Maddalena, et al. 2009 [21] профиль биораспределения ^{177}Lu -AMBA в моделях с низким уровнем рецепторов GRPR продемонстрировал выведение через мочевыводящие пути и основное накопление в поджелудочной железе. Все полученные значения представлены в табл. 6, в том числе данные из исследования Lantry, et al. 2006 [13] для опухоли PC-3.

В работе Liu, et al. 2010 [22] результаты продемонстрировали, что ^{177}Lu -AMBA накапливается в опухоли, надпочечниках, поджелудочной железе, тонком и толстом кишечнике. Наблюдалось быстрое выведение из крови и почек, что указывает на выведение с мочой. Накопление ^{177}Lu -AMBA через 24 часа сохранялось в поджелудочной железе, почках и опухоли (10,4, 3,52 и 0,45% ID/g), что подтверждалось результатами сканирования на ОФЭКТ. Отношение накопления в опухоли к накоплению в крови достигало максимума в течение 24 часов, а затем снизилось.

Как следует из табл. 6, ^{177}Lu -AMBA аналогично ^{68}Ga -AMBA преимущественно накапливается в поджелудочной железе, ЖКТ и почках. При этом результаты значительно лучше согласуются между собой по сравнению с ^{68}Ga -AMBA; различия в определении накопленной активности не превышали 8 раз.

Результаты, представленные в табл. 4–6, указывают на следующие общие недостатки всех рассмотренных работ:

- малое количество выбранных временных точек (как правило, две), что не позволяет адекватно оценить процессы распределения РФЛП по организму и его метаболизма;

- ограниченное количество рассмотренных органов и чрезмерное упрощение представленных результатов. Например, ЖКТ в большинстве работ представлен в виде единого органа, без подразделения на толстый/тонкий кишечник;

- несогласованность формата представления результатов существенно затрудняет сравнительную оценку накопленных активностей в органах и тканях;

- оценка накопления, введенного РФЛП, по результатам разных работ значительно отличается: до 20 раз для AMBA, меченного ^{68}Ga , и до восьми раз для AMBA, меченного ^{177}Lu .

ВЫВОДЫ

Выполненный анализ литературных источников позволил сделать следующие выводы по перспективной методике проведения экспериментальной оценки биораспределения РФЛП на основе ^{68}Ga и ^{177}Lu -AMBA для оценки поглощенных доз в опухоли и радиочувствительных органах и тканях:

- необходимы данные не менее чем по пяти временным точкам;

- целесообразно использовать выборку мышей объемом не менее пяти особей на временную точку для каждой комбинации РФЛП и типа опухоли;

- оценку накопления радионуклида целесообразно проводить методами прямой и непрямой радиометрии (ПЭТ): не менее пяти особей – для непрямой радиометрии, не менее 25 особей – для прямой радиометрии на каждый РФЛП и тип опухоли;

– в связи с тем, что специализированные ПЭТ для животных в Санкт-Петербурге отсутствуют, с целью оценки биораспределения для не прямой радиометрии РФЛП, меченного ^{68}Ga , допустимо динамическое сканирование ПЭТ в течение 120–240 минут после введения РФЛП с целью контроля результатов прямой радиометрии. Точки для прямой радиометрии целесообразно выбирать в этом же временном интервале;

– для оценки биораспределения РФЛП, меченного ^{177}Lu , целесообразно проводить сбор данных методом прямой радиометрии, выбирать временные точки в течение 336 часов после введения РФЛП (5–10 точек);

– дизайн исследования должен предусматривать регистрацию накопленной активности как минимум двух периодов полураспада для целей оценки выведения РФЛП из организма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bass RT, Buckwalter BL, Patel BP, et al. Identification and characterization of novel somatostatin antagonists. *Mol Pharmacol*. 1996; 50: 709–15.

2. Fani M, Nicolas GP, Wild D. Somatostatin receptor antagonists for imaging and therapy. *Nucl Med*. 2017; 58(suppl): 61S–66S. DOI: 10.2967/jnumed.116.186783.

3. Пойда, М.Д. ^{68}Ga -ПСМА – меченный биомаркер для позитронной эмиссионной томографии (обзор литературы) / М.Д. Пойда, Д.В. Рыжкова, А.А. Станжевский. – DOI: 10.18705/2311-4495-2018-5-5-46-52 // Трансляционная медицина. 2018. – Т. 5. – №5. – С. 46–52.

4. Silver DA, Pellicer I, Fair WR, et al. Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues. *Clin Cancer Res*. 1997; 3 (1): 81–5.

5. Conway RE, Petrovic N, Li Z, et al. Prostate-specific membrane antigen regulates angiogenesis by modulating integrin signal transduction. *Mol Cell Biol*. 2006; 26 (14): 5310–24. DOI: 10.1128/MCB.00084-06.

6. Ghosh A, Heston WD. Tumor target prostate specific membrane antigen (PSMA) and its regulation in prostate cancer. *J Cell Biochem*. 2004; 91 (3): 528–39. DOI: 10.1002/jcb.10661.

7. Ross JS, Sheehan CE, Fisher HA, et al. Correlation of primary tumor prostate-specific membrane antigen expression with disease recurrence in prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2003; 9 (17): 6357–62.

8. Lütje S, Heskamp S, Cornelissen AS, et al. PSMA Ligands for Radionuclide Imaging and Therapy of Prostate Cancer: Clinical Status. *Theranostics*. 2015; 5 (12): 1388–401. DOI: 10.7150/thno.13348.

9. de Visser M, Bernard HF, Erion JL, et al. Novel ^{111}In -labelled bombesin analogues for molecular imaging of prostate tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007; 34: 1228–38. DOI: 10.1007/s00259-006-0356-3.

10. Cornelio DB, Roesler R, Schwartzmann G. Gastrin-releasing peptide receptor as a molecular target in experimental anticancer therapy. *Ann Oncol* 18:1457–66. DOI: 10.1093/annonc/mdm058.

11. Xiao D, Wang J, Hampton LL, et al. The human gastrin-releasing peptide receptor gene structure, its tissue expression and promoter. *Gene*. 2001; 264: 95–103. DOI: 10.1016/S0378-1119(00)00596-5.

12. Roesler R, Henriques JA, Schwartzmann G. Gastrin-releasing peptide receptor as a molecular target for psychiatric

and neurological disorders. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2006; 5 (2): 197–204. DOI: 10.2174/187152706776359673.

13. Lantry LE, Cappelletti E, Maddalena ME, et al. Lu-AMBA: synthesis and characterization of a selective ^{177}Lu -labeled GRP-R agonist for systemic radiotherapy of prostate cancer. *J Nucl Med*. 2006; 47 (7): 1144–52.

14. Schroeder RPJ, Müller C, Reneman S, et al. A standardised study to compare prostate cancer targeting efficacy of five radiolabelled bombesin analogues. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010; 37 (7): 1386–96. DOI: 10.1007/s00259-010-1388-2.

15. Schroeder RPJ, van Weerden WM, Krenning EP, et al. Gastrin-releasing peptide receptor-based targeting using bombesin analogues is superior to metabolism-based targeting using choline for in vivo imaging of human prostate cancer xenografts. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2011; 38 (7): 1257–66. DOI: 10.1007/s00259-011-1775-3.

16. Dam JH, Olsen BB, Baun C, et al. In vivo evaluation of a bombesin analogue labeled with Ga-68 and Co-55/57. *Mol. Imaging Biol*. 2016; 18 (3): 368–76. DOI: 10.1007/s11307-015-0911-z.

17. Pandey U, Mukherjee A, Jindal A, et al. Preparation and evaluation of a single vial AMBA kit for ^{68}Ga labeling with potential for imaging of GRP receptor-positive cancers. *J Radioanal Nucl Chem*. 2016; 307: 1115–24. DOI: 10.1007/s10967-015-4290-3.

18. Prignon A, Nataf V, Provost C, et al. ^{68}Ga -AMBA and ^{18}F -FDG for preclinical PET imaging of breast cancer: effect of tamoxifen treatment on tracer uptake by tumor. *Nucl Med Biol*. 2015; 42 (2): 92–8. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2014.10.003.

19. Layman R. Quantitative PET/CT Imaging Based Biodistribution Validated in a Porcine Model using a Targeted Peptide Radiotracer, AMBA. Ohio State University; 2013.

20. Baum RP, Prasad V, Mutloka N, et al. Molecular imaging of bombesin receptors in various tumors by Ga-68 AMBA PET/CT: first results [abstract]. *J Nucl Med*. 2007; 48 (Suppl 2): 79.

21. Maddalena ME, Fox J, Chen J, et al. ^{177}Lu -AMBA Biodistribution, Radiotherapeutic Efficacy, Imaging, and Autoradiography in Prostate Cancer Models with Low GRP-R Expression. *Journal of Nuclear Medicine*. 2009; 50 (12): 2017–24. DOI: 10.2967/jnumed.109.064444.

22. Liu I, Chang C-H, Ho C, et al. Multimodality imaging and preclinical evaluation of ^{177}Lu -AMBA for human prostate tumours in a murine model. *Anticancer Res*. 2010; 30: 4039–48.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Андрей Алексеевич Станжевский, д-р мед. наук, заместитель директора по научной работе Российского научного центра радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: stanzhevsky@gmail.com

Артём Алексеевич Мосунов, студент Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: zawq2000@gmail.com

Лариса Александровна Чипига, канд. техн. наук, научный сотрудник лаборатории РГМО Научно-исследовательского института радиационной гигиены имени профессора П.В. Рамзаева, Санкт-Петербург, Россия; научный сотрудник Российского научного центра радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры ядерной медицины и радиационных технологий Национального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: larisa.chipiga@gmail.com

Александр Валерьевич Водоватов, канд. биол. наук, заведующий лабораторией РГМО Научно-исследовательского института радиационной гигиены имени профессора П.В. Рамзаева, Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры гигиены Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: vodovatoff@gmail.com

Лаура Талгатовна Наурзбаева, студент, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: naurzbaeva.laura@gmail.com

Станислав Михайлович Кушнаренко, студент, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: arichikaaris@mail.ru

Дмитрий Денисович Лаврешов, студент, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: ldd99@mail.ru

Петрова Анна Евгеньевна, студент, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: anyapetrova2797@gmail.com

ADDITIONAL INFORMATION ABOUT AUTHORS

Andrey A. Stanzhevsky, Doctor of Medicine (MD), Deputy Director for research, A. M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, Saint Petersburg, Russia; e-mail: stanzhevsky@gmail.com

Artem A. Mosunov, student, Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: zawq2000@gmail.com

Larisa A. Chipiga, Ph.D. in Engineering Sciences, Researcher at the laboratory of radiation hygiene of medical organizations, Saint Petersburg Research Institute of Radiation Hygiene after Professor P.V. Ramzaev, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being, Saint Petersburg, Russia; Researcher, A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, Saint Petersburg, Russia; Associate Professor, Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia; e-mail: larisa.chipiga@gmail.com

Alexander V. Vodovатов, Ph.D. in Biological Sciences, Head of radiation hygiene of medical organizations, Saint Petersburg Research Institute of Radiation Hygiene after Professor P.V. Ramzaev, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being, Saint Petersburg, Russia; Associate Professor, Department of Hygiene, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: vodovatoff@gmail.com

Laura T. Naurzbaeva, student, Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: naurzbaeva.laura@gmail.com

Stanislaus M. Kushnarenko, student, Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: arichikaaris@mail.ru

Dmitry D. Lavreshov, student, Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: ldd99@mail.ru

Anna E. Petrova, student, Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: anyapetrova2797@gmail.com

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Development of the design of the preclinical trials of radiopharmaceuticals for the radionuclide diagnostics and therapy based on the AMBA peptide

©2020. A.A. Stanzhevsky¹, A.A. Mosunov², L.A. Chipiga^{*1,3,4}, A.V. Vodovатов^{3,5},
L.E. Naurzbaeva², S.M. Kushnarenko², D.D. Lavreshov², A.E. Petrova²

¹ A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, Saint Petersburg, Russia

² Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

³ Saint Petersburg Research Institute of Radiation Hygiene after Professor P.V. Ramzaev, Saint Petersburg, Russia

⁴ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

⁵ Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

* e-mail: larisa.chipiga@gmail.com

Received December 03, 2020;

Revised December 15, 2020;

Accepted December 24, 2020

The present study is related to one of the promising areas of nuclear medicine: the use of peptides – bombesin analogues, labeled with ⁶⁸Ga – for diagnosis and ¹⁷⁷Lu – for therapy of prostate cancer. In the Russian Federation, preclinical trials of similar radiopharmaceutical drugs are in the study design stage. The aim of the current study was to develop the design of the preclinical study for the radiopharmaceutical drugs to assess the biodistribution of a peptide, an analogue of bombesin, intended for the diagnosis and treatment of prostate cancer.

The study was based on the meta-analysis of the available publications in peer-reviewed journals. The analysis was performed using the full-text archive of biomedical and life sciences journals PubMed Central for the following keywords: “radionuclide therapy”, “nuclear medicine”, “AMBA”, “⁶⁸Ga” и “¹⁷⁷Lu”. The study included the comparative analysis of the animal and patient samples, methods of data collection and results of the accumulation of radiopharmaceuticals in nodules and radiosensitive organs and tissues.

The results of the study allowed proposing the minimal requirements for the animal samples (at least 30 animals for each radiopharmaceutical), data collection (direct radiometry and PET) and time points (not less than 5 measurements in 120-240 minutes for the radiopharmaceuticals labeled with ⁶⁸Ga and 5 measurements in 336 hours for the radiopharmaceuticals labeled with ¹⁷⁷Lu) for the assessment of the biodistribution of the radiopharmaceuticals.

KEYWORDS: biodistribution of radiopharmaceuticals; preclinical study design; radionuclide therapy; radionuclide diagnostic; nuclear medicine; the use of peptide; experimental animals; malignant neoplasms