

УДК 616-006.04

ИЗУЧЕНИЕ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ МЕТАСТАТИЧЕСКИХ ОПУХОЛЕЙ ПОЗВОНОЧНИКА (РАДИОНУКЛИДНОЙ ВЕРТЕБРОПЛАСТИКИ) ПУТЕМ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА

Дуфлот В.Р.¹, Ермаков В.С.¹, Клементьева О.Е.², Красноперова А.С.², Лобанова Е.И.¹,
Лунёва К.А.²

¹АО «НИФХИ им. Л.Я. Карпова»; Россия, Калужская обл., 249033, г. Обнинск, Киевское ш., д. 6

²ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Россия, 123182, г. Москва, ул. Живописная, д. 46

Ключевые слова: радиофармацевтический препарат, самарий-153, кифопластика, радионуклидная вертебропластика, полиметилметакрилат, фармакокинетика, доклинические исследования, костный цемент, злокачественные опухоли

Выполнены доклинические исследования функциональной пригодности (терапевтического потенциала) нового радиофармацевтического лекарственного препарата, предназначенного для радионуклидной вертебропластики. В экспериментах на лабораторных животных показано, что через 6 ч после заполнения костного дефекта доля удержанного РФЛП в среднем составила 99,89%. Через 72 ч препарат оставался в месте введения почти на 100%, накопление препарата в нецелевых органах и тканях на уровне фоновых значений, что свидетельствует о полной фиксации РФЛП в костном цементе.

Состояние животных, получивших лечение радиофармацевтическим лекарственным препаратом, изменялось от практически полного отказа до равноценного использования обеих конечностей. Это свидетельствует не только об уменьшении выраженности болевого синдрома, но и стабилизации структуры кости с нарушенной целостностью. В группе нелеченных животных нарушенная функция не восстанавливалась, на вскрытии обнаруживались спонтанные переломы большой берцовой кости в области костного дефекта.

В исследованиях *in vitro* отмечены замедление процесса формирования в культуральных флаконах монослоя клеток аденокарциномы молочной железы и их гибель на 2-е сутки после начала инкубирования в присутствии РФЛП. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о функциональной пригодности разработанного РФЛП.

Введение

В последние годы все шире применяются новые малоинвазивные хирургические методы, позволяющие значительно улучшить качество жизни пациентов, не прибегая к обширным оперативным вмешательствам. К этим методам относятся чрескожная вертебропластика (ЧКВП) или чрескожная кифопластика (ЧККП), которые позволяют провести лечение у тяжелой группы онкологических

больных. Данный метод завоевал достойное место во всем мире среди средств паллиативной терапии, значительно улучшающих качество жизни пациентов [1–3].

ЧКВП обеспечивает стабилизацию и консолидацию поврежденных позвонков с использованием костных цементов на основе акриловых смол у больных с разнообразными поражениями тел позвонков. Суть метода заключается в чрескожном введении с помощью специальной иглы через дужку в тело пораженного позвонка акрилового полимера (ПММА), так называемого костного цемента (КЦ). Это позволяет значительно укрепить структуру позвонка, а нагревание цемента за счет экзотер-

Адрес для корреспонденции

Дуфлот Владимир Робертович
E-mail: duflot@karpovipc.ru

мической реакции полимеризации до 60–70 °С при наличии опухолевого процесса элиминирует опухолевые поражения позвоночника.

Не отрицая достоинства ЧКВП, следует, однако, признать, что данный метод не позволяет воздействовать на опухолевые клетки, образующие метастазы. Таким образом, улучшая качество жизни пациента, этот метод оставляет возможность повторного возникновения очага заболевания.

В исследовании [4] эффективность процедуры ЧКВП в сочетании с паллиативной лучевой терапией, проведенной сразу после реставрации позвоночника, была классифицирована как перспективная. Объединенные процедуры приводили к значительному сокращению интенсивности болевого синдрома сразу после операции с поэтапным сокращением приема опиоидных анальгетиков, а в результате и полным прекращением их приема всеми пациентами.

В работах [5, 6] рассматриваются процедуры ЧККП в сочетании с интраоперационной лучевой терапией для лечения симптоматических позвоночных метастазов между позвонками T3 и L5. У пациента под инкубационным наркозом экстрапедикулярный или бипедикулярный доступ к позвонку был выбран для обычной кифопластики, после чего следует введение в специальных оболочках радиационного аппликатора генератора рентгеновского излучения (Intrabeam®, Германия). Доза облучения составляет 8 Гр на глубине 5–10 мм в зависимости от программы исследования (50 кэВ рентгеновского излучения). После облучения традиционную процедуру ЧККП осуществляли в позвонок стабилизирующим цементом. Комбинация процедур демонстрирует новый подход к лечению вертебральных метастазов и представляет собой ценную альтернативу ранее установленным методам [7–9].

В настоящее время лечение позвоночных метастазов часто включает в себя ЧКВП или ЧККП с последующей дистанционной лучевой терапией (ДЛТ).

В качестве альтернативы предлагается использовать костный цемент, включающий радионуклид. В исследовании [10] использовали метод Монте-Карло для моделирования переноса излучения и оценки распределения дозы от изотопа ^{32}P в радиоактивном цементе в ряде модельных клинических сценариев. Изодозные кривые, как правило, концентричны относительно поверхности костного цемента, впрыснутого в полость позвоночного фантома, указывая, что распределение дозы является относительно равномерным, что облегчает планирование лечения.

Результаты моделирования показали, что терапевтическая доза может быть доставлена в опухоль/кость в пределах ~4 мм от поверхности цемента при обеспечении безопасной дозы вне указанного расстояния. Этот терапевтический диапазон должен

быть достаточным для лечения метастазов внутри тела позвонка, когда абляция опухоли или другие методы используются для создания полости.

При дальнейшем развитии метода лечения позвоночных метастазов с помощью радиоактивного костного цемента может стать клинически полезной и удобной альтернативой традиционному двухэтапному чрескожному восстановлению целостности и прочности позвонков с последующей лучевой терапией.

Системная радионуклидная терапия начала применяться для паллиативного лечения метастазов в кости только в последние годы. Этот метод предполагает подведение терапевтической дозы радиации в костные метастазы путем использования радиоактивных остеотропных препаратов. Одним из них является стронций-89 (стронция хлорид). В ряде клинических исследований показана его высокая анальгетическая активность при метастазах рака предстательной железы. Последнее связано с повышенным захватом стронция в очагах костеобразования, которое наблюдается в склеротических метастазах при этой патологии. Терапевтический эффект достигается благодаря бета-излучению изотопа, которое позволяет минимизировать облучение окружающих очаг нормальных тканей. Пробег частиц при этом в мягких тканях составляет 8 мм, в костях — 5 мм. Системная радионуклидная терапия эффективна также при костных метастазах опухолей других локализаций (рак молочной железы, почки).

В настоящее время проходит клинические испытания препарат ^{153}Sm [11], в котором радиоизотоп соединен с бисфосфонатом и поэтому в большей степени, чем аналогичные препараты, накапливается в очагах костеобразования. В этих зонах локально создаются высокие дозы β -излучения, воздействующие на опухолевую ткань, участки перифокальной инфильтрации и воспаления, а также на остеокласты, разрушающие костную ткань. Особенностью препарата является наличие как β -, так и γ -излучения. Это позволяет получать сначала изображение очагов при сканировании и в последующем терапевтический эффект.

Использование радиоизотопа ^{153}Sm в сочетании с вертебропластикой по стандартной методике костного паллиативного лечения — 37 МБк/кг массы тела на небольшой группы пациентов, которые имели широко распространенные метастазы костей и переломы позвонков или надвигающуюся компрессию спинного мозга, показало значительное (вдвое) снижение интенсивности боли в спине через несколько часов после процедуры вертебропластики, хотя пациенты все еще имели остаточную боль в костях. После лечения ^{153}Sm -EDTMP средний балл интенсивности боли дополнительно уменьшился почти до нуля.

Самарий-оксабифор (^{153}Sm) является первым остеотропным радиофармацевтическим лекарственным препаратом (РФЛП), разработанным в России (рег. № 000008/01-2000, патент РФ № 2162714 от 20.06.2000). По механизму действия он близок к зарубежному аналогу ^{153}Sm -EDTMP (лексидронам), выпускаемому под коммерческим названием «Квадрамед» (фирма «CIS Bio International»). Однако применение радионуклидной терапии имеет свои ограничения, вызванные прежде всего миелотоксичностью с высоким риском развития панцитопении (в частности, тяжелой миелосупрессии) [12].

Целью работы [13] было изучение минимально инвазивной методики для лечения метастатических опухолей тела позвонка путем ЧКВП в сочетании с промежуточной доставкой ^{153}Sm , а также сведение к минимуму негативных последствий системного применения ^{153}Sm . Процедура выполнялась таким же образом, как обычная ЧКВП с использованием одностороннего экстрапедикулярного подхода под местной анестезией.

Перед надуванием баллона большая часть опухоли удалялась путем чрескожного выскабливания. Надувание шара осуществляется в соответствии со стандартом кифопластики с целью создать большее пространство и уменьшить имеющиеся кифотические дефекты. Препарат в виде водного раствора ^{153}Sm -EDTMP (этилендиаминтетраметилефосфоновая кислота) с объемной активностью 3мКи смешивают с костным цементом на основе ПММА и вводят в пустоту баллона с легким утрамбовыванием. Была надежно и воспроизводимо осуществлена доставка меченого ^{153}Sm -EDTMP к метастатическим сайтам без утечки. Не наблюдалось гематологической токсичности при используемых низких дозах ^{153}Sm . Болевые ощущения снизились у всех пациентов. Вывод авторов: комбинированная чрескожная циторедукция из закрытых позвоночных метастазов и локального введения ^{153}Sm осуществима и безопасна. Кроме того, данный метод приводит к немедленному облегчению боли, связанной с раком, и может помочь предотвратить или замедлить прогрессирование позвоночных метастатических опухолей.

В работах [15–20] изложены преимущества метода терморadiационного воздействия при выполнении радионуклидной вертебропластики костным цементом. Настоящий проект является развитием метода, который позволяет объединить восстановление прочности костной ткани тела позвонка, пораженного литическим метастазом, и обеспечить максимальный радиационный цитолитиз опухолевых клеток в условиях гипертермической радиосенсибилизации. Разогрев ткани тела позвонка вокруг костного цемента в процессе полимеризации метилметакрилата недостаточен для радикального уничтожения злокачественных клеток, но позволяет осуществить их радиосенсибилизацию. Радиаци-

онное облучение обеспечивается присутствием в составе костного цемента равномерно распределенного радиоактивного изотопа. Преимущества метода заключаются в следующем: осуществляется одномоментная процедура, что устраняет необходимость в многократном проведении фракционированной ДЛТ в условиях специализированного лечебного учреждения после выполненной стабилизирующей вертебропластики, освобождая больных с нарушенным качеством жизни от повторных 10–15 визитов в больницу. Болюсное воздействие полной дозы радиоактивного облучения одновременно с гипертермическим воздействием обеспечивает взаимное усиление их цитолитического эффекта, то есть синергизм.

В свете приведенных данных [14–20] становится очевидным, что при использовании для лечения метастатических поражений позвоночника радиоактивного костного цемента на основе ПММА значительный интерес представляет прогнозирование уровня разогрева костной ткани в непосредственной близости к цементному ядру, а также моделирование терморadiационного цитолитического эффекта при кратковременном, менее 20 мин, воздействии температур в диапазоне 42,5–60 °С. Отсутствие метода, позволяющего прогнозировать разогрев костной ткани тела позвонка в процессе стабилизирующей вертебропластики, делает невозможным оценку рисков активации опухолевого роста. В связи с этим становится понятным интерес к созданию моделей, позволяющих прогнозировать пространственное и временное распределение температурных и изодозных полей вокруг радиоактивного цементного ядра. На основе выполненных ранее экспериментов авторами был разработан расчетный аппарат для моделирования тепловых и радиационных биологических эффектов при введении радиоактивного костного цемента (КЦ) на основе ПММА (КЦ – ^{153}Sm и КЦ – ^{188}Re) в костную ткань позвонков при выполнении радионуклидной вертебропластики для лечения спинальных метастазов.

Таким образом, в последние годы начала применяться для паллиативного лечения метастазов в кости системная радионуклидная терапия. Этот метод предполагает подведение терапевтической дозы радиации в костные метастазы путем включения радиоактивных остеотропных препаратов ^{89}Sr , ^{153}Sm .

Целью настоящего исследования является создание РФЛП с гомогенным распределением радионуклида в массе костного цемента и проведение доклинических исследований костного цемента на основе ПММА и ^{153}Sm для выполнения ЧКВП.

Материалы и методы

Радиофармацевтический лекарственный препарат представляет собой двухкомпонентный состав, состоящий из порошкообразного полимера метил-

метакрилата с сульфатом бария и пероксидом бензоила, выступающего инициатором полимеризации, и жидкого мономера метилметакрилата с введенным в его состав N,N-диметил-п-толуидина и радионуклида самарий-153.

Радионуклид ^{153}Sm относится к β -излучателям ($E_{\beta} = 233$ кэВ) с периодом полураспада 1,9 дня. ^{153}Sm излучает также γ -кванты ($E_{\gamma} = 103$ кэВ), что позволяет проводить сцинтиграфию и визуализировать накопление радионуклида в скелете. Короткий период полураспада позволяет использовать высокие активности, что обеспечивает более раннее наступление клинического эффекта. Средний пробег β -частиц в костной ткани – 1,7 мм, в мягких тканях – 3,1 мм. Его получали облучением обогащенного по ^{152}Sm хлорида самария в каналах ядерного реактора ВВР-ц. Сечение захвата тепловых нейтронов по реакции $^{152}\text{Sm}(n, \gamma)^{153}\text{Sm}$ составляет 210 барн.

Способ приготовления РФЛП

При смешении мономера и гранул полимера последние растворяются в мономере, а находящиеся в них N,N-диметил-п-толуидин и пероксид бензоила образуют окислительно-восстановительную пару, которая инициирует процесс полимеризации мономера. Процесс полимеризации происходит постепенно: на начальном этапе смесь представляет собой вязкую жидкость, затем приобретает кремообразную консистенцию, которая позже становилась густой и, наконец, твердой. Реакция – экзотермическая с высоким подъемом температуры, который может достигать 65 °С.

Рекомендуемая температура при смешивании компонентов не должна превышать 23 °С. Чем выше температура, тем меньше время работы с РФЛП (для подготовки, инъекции и отверждения); чем ниже температура, тем продолжительнее возможное время работы. Во время приготовления РФЛП необходимо соблюдать последовательность при смешении компонентов. Жидкую компоненту КЦ смешивают с раствором хлорида самария-153 в органическом растворителе, затем высыпают порошок и смешивают в течение 30 с (не взбивая!).

Полученную смесь загружают в шприц-дозатор для ввода препарата, по истечении 4 мин после смешения вводят препарат в полость. После введения препарата иглу извлекают до того момента, когда цемент затвердеет (до 9 мин).

Выбор оптимальной модели для выполнения доклинических исследований

Одной из самых важных задач при лечении злокачественных опухолей является борьба с метастазами. Осложняет ситуацию то, что первичная опухоль и метастазы могут иметь разную чувствительность к тем или иным препаратам, в результате чего лекарства, которые хорошо справляются с первичной

опухолью, могут оказаться бессильны против метастазов. Поэтому разработка экспериментальных моделей метастатического поражения продолжает оставаться одним из актуальных вопросов экспериментальной онкологии.

При выборе модели, пригодной для выполнения доклинических исследований конкретного РФЛП, при его применении в клинических условиях должны реализоваться два взаимодополняющих, но функционально различных терапевтических действия. С одной стороны – полимерный носитель радионуклида должен обеспечивать восстановление опороспособности позвоночника. С другой стороны, β -излучение радионуклида ^{153}Sm придает исследуемому радиофармацевтическому препарату свойства лекарственного средства, предназначенного для радионуклидной терапии. Соответственно и модель для оценки функциональной пригодности данного препарата должна, с одной стороны, адекватно отражать патофизиологические процессы поражения позвоночника при поражении его костными метастазами, а с другой стороны – позволить оценить терапевтический эффект, возникающий при воздействии радионуклида на опухолевые клетки.

Наиболее адекватной моделью следует признать нарушение функции опоры задней конечности лабораторного животного путем создания костного дефекта, который в ходе исследований заполняют костным цементом [21]. Учитывая анализ литературных данных, следует считать оптимальной *in vitro* моделью аденокарциному молочной железы человека линии MCF 7 как наиболее отработанную и доступную.

Таким образом, в ходе выполнения исследований РФЛП по изучению функциональной пригодности сочетали несколько экспериментальных моделей костной патологии у лабораторных животных для исследований терапевтической эффективности и фармакокинетики и клеточную культуру рака молочной железы как одну из наиболее часто метастазирующих в позвоночник для исследования цитотоксического действия.

Формирование экспериментальных групп

Для исследований терапевтической эффективности и фармакокинетики были использованы самки крыс линии Wistar с массой тела 120–140 г. Исследования выполнены на животных с моделью костной патологии, а именно с сегментарным костным дефектом диафизарной части большеберцовой кости правой тазовой конечности.

Терапевтическая эффективность оценена по степени выраженности болевого синдрома с помощью прибора «Тест инвалидности» (Panlab Harvard Apparatus, Испания), который во время измерения определяет средний вес, приложенный отдельно на левый и правый датчики. По результатам измерений

по формуле 1 рассчитывали «индекс терапевтического действия» (ИТД), значение которого отражает долю участия пораженной конечности в реализации опорной функции:

$$ИТД = \frac{П_{пр}}{П_{пр} + П_{лев}}$$

где ИТД – индекс терапевтического действия, $П_{пр}$ – показатель правой лапы (с моделью патологии), $П_{лев}$ – показатель левой лапы (интактная у всех групп животных).

Для проведения фармакокинетических исследований были сформированы четыре группы животных по три особи в группе для каждого временного интервала исследования. Исследуемый препарат вводили в достаточном для заполнения костного дефекта объеме (с объемной активностью 300 МБк/мл не более 0,3 мл). Через 6; 24; 48 и 72 ч после инъекции животных выводили из эксперимента путем частичной декапитации для отбора проб органов и тканей. Радиометрию полученных проб проводили с использованием автоматического гамма-счетчика Wizard 2480 (PerkinElmer, USA). По результатам радиометрии выполняли расчет доли РФЛП, аккумулированного (накопленного) в органах (пробах).

Все процедуры, связанные с умерщвлением животных, выполняли согласно руководству по лабораторным животным и европейской конвенции по их защите, изложенной в директиве Европейского сообщества (210/63/EU) [23, 24].

Изучение цитотоксического действия РФЛП проводилось с использованием штамма аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 (коллекция АТСС). В пять подготовленных культуральных флаконов с площадью поверхности роста 25 см² вносили пробы РФЛП с объемной активностью 300 МБк/мл, равномерно распределяя раствор по площади дна флакона порциями ~20–30 мкл, после чего во флакон вносили 7 мл ростовой питательной среды, рекомендованной для линии клеток MCF-7. В течение последующих 4 сут визуально

один раз в день оценивали процесс формирования клеточного монослоя.

Результаты и обсуждение

Изучение терапевтической эффективности РФЛП на основе самария-153 в полимерном носителе для лучевой терапии метастатических опухолей позвоночника

Полученные результаты наглядно демонстрируют восстановление опорной функции пораженной конечности у животных, получивших лечение РФЛП. Состояние животных изменялось от практически полного отказа до равноценного использования обеих конечностей. Это свидетельствует не только об уменьшении выраженности болевого синдрома, но и стабилизации структуры кости с нарушенной целостностью. В группе нелеченных животных нарушенная функция не восстанавливалась, во вскрытии обнаруживались спонтанные переломы большой берцовой кости в области костного дефекта (табл. 1).

Графическое представление динамики изменения индекса терапевтического действия исследуемого РФЛП показано на рис. 1. В среднем животное использует каждую лапу одинаково, следовательно, значение ИТД у здоровых животных составляет приблизительно 0,5. Это значение достигалось у леченных животных на 6–7-й день после проведения процедуры заполнения костного дефекта РФЛП.

Изучение фармакокинетики радиофармацевтического лекарственного препарата в организме лабораторных животных

Результаты фармакокинетических исследований показали, что через 6 ч после заполнения костного дефекта доля удержанного РФЛП в среднем составила 99,89%. Через 72 ч препарат оставался в месте введения почти на 100%, накопление препарата в нецелевых органах и тканях на уровне фоновых значений, что свидетельствует о полной фиксации РФЛП в костном цементе (табл. 2).

Таблица 1. Результаты исследования выраженности болевого синдрома у крыс (средний вес, приложенный на датчики прибора, г; правая лапа с моделью патологии)

День после введения РФЛП	Леченные		Нелеченные	
	Левая	Правая	Левая	Правая
0 (непосредственно перед введением)	98,96±4,95	15,44±1,42	106,18±7,79	11,84±0,91
1	88,84±6,31	24,88±2,50	102,56±6,34	17,44±1,31
2	81,48±6,92	35,86±2,11	99,72±5,05	22,61±1,64
3	78,22±5,49	44,12±2,40	97,50±5,20	26,52±3,28
4	75,34±3,80	51,28±2,52	95,22±4,63	31,64±3,13
6	73,02±4,40	60,98±4,56	93,21±4,35	34,80±2,63
7	70,28±4,47	68,98±4,84	91,58±5,02	38,04±2,30

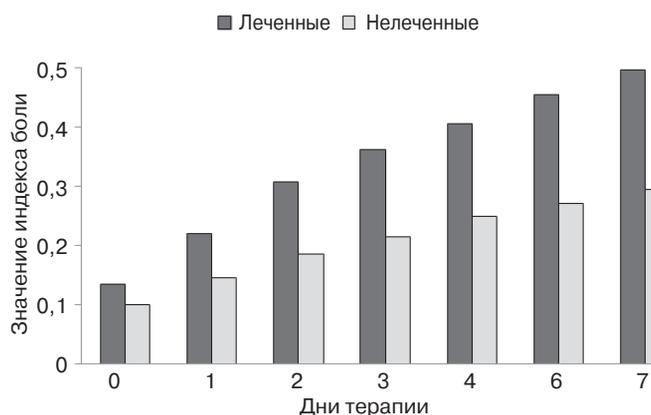


Рис. 1. Динамика изменения значения индекса терапевтического действия РФЛП у крыс

открепление клеток от поверхности дна флаконов, в значительном количестве на 4-е сутки. В контрольных флаконах через 4 сут инкубирования отмечен активный процесс формирования монослоя (рис. 2).

Тогда как во флаконах с РФЛП этот процесс практически не происходил (рис. 3). На рисунках представлены микрофотографии клеток через 4 сут после начала эксперимента, полученные при микроскопировании культуральных флаконов на инвертированном микроскопе с фазовым контрастом и увеличением $\times 100$.

В табл. 3 представлены результаты визуальной оценки динамики формирования монослоя клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7 по результатам ежедневного контроля.

Таблица 2. Фармакокинетика РФЛП в органах крыс с модельной патологией (% от суммарной активности всех органов животного)

Органы/Ткани	Время после введения, ч			
	6	24	48	72
Сердце	0,01±0,01	0,01±0,01	0,01±0,01	0,01±0,01
Легкие	0,02±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Желудок	0,01±0,02	0,01±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00
Печень	0,01±0,01	0,02±0,02	0,00±0,00	0,01±0,02
Почки	0,02±0,01	0,01±0,00	0,01±0,02	0,00±0,00
Селезенка	0,01±0,02	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Большеберцовая кость	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Большеберцовая кость с заполненным дефектом)	99,89±0,03	99,97±0,02	99,98±0,01	99,99±0,01

Так как РФЛП на основе самария-153 в полимерном носителе для лучевой терапии метастатических опухолей позвоночника не выводился из места введения, то высчитать математически биологические и эффективные периоды полувыведения из разных органов и тканей не представилось возможным. Таким образом, теоретически биологический период полувыведения РФЛП из места введения стремился к бесконечности. В этом случае эффективный период полувыведения можно приравнять к физическому периоду полураспада самария-153 – 46,3 ч.

Изучение цитотоксического действия на культуру опухолевых клеток, наиболее часто метастазирующих в позвоночник

Визуальный контроль роста опухолевых клеток и формирования монослоя показал, что в присутствии РФЛП скорость деления клеток значительно снижается. Это отразилось на жизнеспособности клеток MCF-7. Во все сроки наблюдения отмечалось

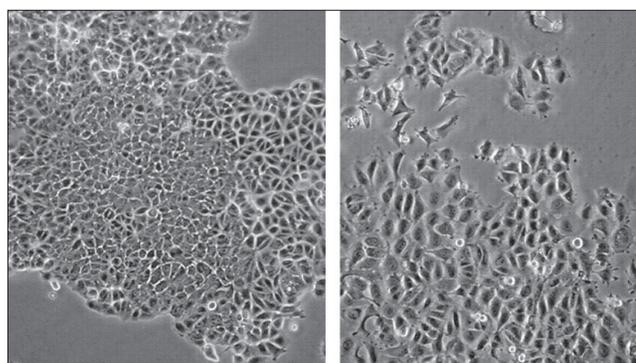


Рис. 2. Формирование монослоя клеток MCF-7 в контроле

Как показывают результаты исследования, в присутствии РФЛП отмечается гибель клеток аденокарциномы молочной железы на 2-е сутки после начала инкубирования. Это выражается в откреплении клеток от поверхности культурального флакона. Отмечено существенное замедление процесса формирования монослоя, который на момент окончания эксперимента не перешел в стадию сливного роста.

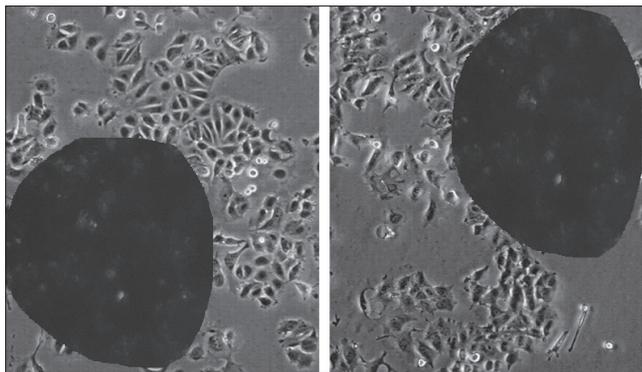


Рис. 3. Формирование монослоя клеток MCF-7 в присутствии РФЛП (темные области)

В публикации Cheng Wang, Jing Wang и соавт., посвященной изучению явления апоптоза, индуцируемого воздействием стронция-89 на клетки аденокарциномы молочной железы MCF-7 [22], показано, что при воздействии радионуклида с объемной активностью в инкубационной среде над монослоем клеток 3330 КБк/мл (3,33 МБк/мл) в течение 36; 48 и 72 ч в монослое формируются поглощенные дозы, равные 3,38; 4,5 и 6,76 Гр соответственно. При этом наблюдали до 46,3% апоптотических клеток и существенное ингибирование пролиферации. Несмотря на различие в характеристиках стронция-89 (средняя энергия β -излучения 583 кэВ, средний пробег

клиническим условиям, показали значительный терапевтический потенциал РФЛП применительно к опухолям позвоночника в эксперименте *in vitro*.

Заключение

Экспериментальные данные по изучению динамики распределения РФЛП показали 100% фиксацию активности в цементе на протяжении 72 ч, что позволит обеспечить эффективную поглощенную дозу излучения в очаге злокачественного роста и минимизирует влияние излучения на критические органы.

С точки зрения терапевтической эффективности введение РФЛП непосредственно в костный дефект способствует снижению выраженности болевого синдрома пораженной конечности, положительной динамике в восстановлении двигательной активности, а также стабилизации большеберцовой кости с костным дефектом.

Результаты исследования цитотоксического действия РФЛП в экспериментах *in vitro* показали существенное замедление процесса формирования монослоя клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7 на поверхности дна флаконов и их гибель на 2-е сутки после начала инкубирования.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о функциональной пригодности разработанного РФЛП.

Таблица 3. Результаты визуальной оценки влияния РФП на рост клеток MCF-7

Показатель	Срок инкубирования, сут			
	1	2	3	4
Контроль				
Прикрепление клеток	Полное	Полное	Полное	Полное
Формирование монослоя	4–6 колоний* в поле зрения	10–15 колоний в поле зрения	Сливной рост на 1/3 поверхности	Сливной рост на 2/3 поверхности
РФЛП				
Прикрепление клеток	Полное	20–30 открепившихся клеток в поле зрения	40–50 открепившихся клеток в поле зрения	Более 50 открепившихся клеток в поле зрения
Формирование монослоя	2–3 колонии в поле зрения	4–6 колоний в поле зрения	4–6 колоний в поле зрения	10–15 колоний в поле зрения

Примечание. * Колония – плотное скопление более 20 клеток.

β -частиц в костной ткани – 2,4 мм) и самария-153 (средняя энергия β -излучения со средней 233 кэВ, средний пробег β -частиц в костной ткани – 1,7 мм), с точки зрения локального воздействия на небольшие метастатические очаги в костной ткани, при воздействии самария-153 следует ожидать большей эффективности. В описываемом эксперименте была использована активность РФЛП, превышающая использованную в цитируемой выше публикации.

Таким образом, результаты исследования с активностью, максимально приближенной к реальным

Информация об источниках финансирования

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках реализации мероприятия 2.5 «Доклинические исследования инновационных лекарственных средств» (государственный контракт № 14.N08.12.0106 от 20.09.2016 г).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

- Концепция и дизайн исследования – В.Р. Дуфлот, О.Е. Клементьева.
- Сбор и обработка материала – В.Р. Дуфлот, В.С. Ермаков, Е.И. Лобанова.
- Статистическая обработка данных – А.С. Краснопе-рова, К.А. Лунёва.
- Написание текста – В.Р. Дуфлот, О.Е. Клементьева.
- Редактирование – В.С. Ермаков, Е.И. Лобанова.

ЛИТЕРАТУРА

1. Педаченко ЕГ, Гульчий НВ, Кушаев СВ и соавт. Пункционная вертебропластика при метастазе рака щитовидной железы (обзор литературы и собственное наблюдение). Украинський нейрохірургічний журнал. 2005;(2):81-84 [Pedachenko EG, Gulchii NV, Kuschaev SV. Punkcionnaya vertebroplastika pri metastaze raka schitovidnoi jelezi (obzor literaturi i sobstvennoe nablyudenie). Ukraïnskii neirohirurgichnii jurnal. 2005;(2):81-84 (In Russ.)].
2. Park HJ, Kim HS, Kim SW. Cement Leakage into Adjacent Vertebral Body Following Percutaneous Vertebroplasty. Korean J Spine. 2016;13(2):74-76. DOI: 10.14245/kjs.2016.13.2.74.
3. Дуров ОВ, Шевелев ИН, Тиссен ТП. Вертебропластика при лечении опухолей позвоночника. Хирургия позвоночника. 2004;(4):68-73 [Durov OV, Shevelev IN, Tissen TP. Vertebroplastika pri lechenii opuholei pozvonochnika. Hirurgiya pozvonochnika. 2004;(4):68-73 (In Russ.)].
4. Pron G, Holubowich C, Kaulback K. Vertebral Augmentation Involving Vertebroplasty or Kyphoplasty for Cancer-Related Vertebral Compression Fractures: A Systematic Review. Ont Health Technol Assess Ser. 2016;16(11):1-202.
5. Kayser R, Asse E, Wilhelm E, Adler F, Schmidt R. Kyphoplasty in Combination with Intraoperative Radiotherapy. Technical and Regulatory Characteristics of a Concept for Treatment of Vertebral Metastases. Orthopade. 2013;42(9):765-771.
6. Mao H, Zou J, Geng D, Zhu X, Zhu M, Jiang W. Osteoporotic Vertebral Fractures Without Compression: Key Factors of Diagnosis and Initial Outcome of Treatment with Cement Augmentation Neuroradiology. 2012;54(10):1137-1143. DOI: 10.1007/s00234-012-1018-8.
7. Papanastassiou ID, Aghayev K, Berenson JR, Schmidt MH, Vrionis FD. Is Vertebral Augmentation the Right Choice for Cancer Patients with Painful Vertebral Compression Fractures? Journal of the National Comprehensive Cancer Network. 2012;10(6):715-719.
8. Papanastassiou ID, Aghayev K, Saleh E, Gerochristou M, Vrionis FD. The Actual Management of Tumor and Vertebral Compression Fractures. Journal of Neurosurgical Sciences. 2012;56(2):77-85.
9. Pan J, Qian ZL, Sun ZY, Yang HL. Open Kyphoplasty in the Treatment of a Painful Vertebral Lytic Lesion with Spinal Cord Compression Caused by Multiple Myeloma: A Case Report. Oncology Letters. 2013;5(5):1621-1624. DOI: 10.3892/ol.2013.1222.
10. Kaneko T, Sehgal V, Skinner H, Al-Ghazi MSAL, Ramsinghani N, Marquez Miranda M. Radioactive Bone Cement for the Treatment of Spinal Metastases: a Dosimetric Analysis of Simulated Clinical Scenarios Physics in Medicine and Biology. 2012;57(13):4387-4401. DOI: 10.1088/0031-9155/57/13/4387.
11. Rasulova N, Lyubshin V, Arybzhanov D, Sagdullaev Sh, Krylov V, Khodjibekov M. Optimal Timing of Bisphosphonate Administration in Combination with Samarium-153 Oxabifore in the Treatment of Painful Metastatic Bone Disease. World J Nucl Med. 2013;12(1):14-18. DOI: 10.4103/1450-1147.113939.
12. Белозерова МС, Кочетова ТЮ, Крылов ВВ. Практические рекомендации по радионуклидной терапии при метастазах в кости. Злокачественные опухоли. 2016;(4)

- (Спецвыпуск 2):506-512. DOI: 10.18027/2224-5057-2016-4s2-506-512 [Belozerova MS, Kochetova TYu, Krilov VV. Prakticheskie rekomendacii po radionuklidnoi terapii pri metastazah v kosti. Zlokachestvennie opuholi. 2016;(4) (Specvipusk 2):506-512. DOI: 10.18027/2224-5057-2016-4s2-506-512 (In Russ.)].
13. Cardoso ER, Ashamalla H, Weng L, Mokhtar B, Ali S. Percutaneous Tumor Curettage and Interstitial Delivery of Samarium-153 Coupled with Kyphoplasty for Treatment of Vertebral Metastases. J Neurosurg Spine. 2009;10(4):336-342. DOI: 10.3171/2008.11.SPINE0856.
14. Rasulova N, Lyubshin V, Djalalov F, Kim KH, Nazirova L, Ormanov N. Strategy for Bone Metastases Treatment in Patients with Impending Cord Compression or Vertebral Fractures: a Pilot Study. World J Nucl Med. 2011;10(1): 14-19. DOI: 10.4103/1450-1147.82114.
15. Lim CT, Tan LBK, Nathan SS. Prospective Evaluation of Argon Gas Probe Delivery for Cryotherapy of Bone Tumours. Annals of the Academy of Medicine Singapore. 2012;41(8):347-353.
16. Вознесенский НК, Мардынский ЮС, Матусевич ЕС, Вознесенская НН. Дозиметрическое планирование и выбор нуклида для радионуклидной вертебропластики при метастатическом поражении тел позвонков. Медицинская физика. 2012;(1):34-39 [Voznesenskii NK, Mardinskii YuS, Matusevich ES, Voznesenskaya NN. Dozimetricheskoe planirovanie i viber nuklida dlya radionuklidnoi vertebroplastiki pri metastaticheskom porazhenii tel pozvonkov. Medicinskaya fizika. 2012;(1):34-39 (In Russ.)].
17. Вознесенский НК, Кураченко ЮА, Матусевич ЕС, Мардынский ЮС, Вознесенская НН. Радионуклидная вертебропластика при метастазах в позвоночнике. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2012;57(3):46-52 [Voznesenskii NK, Kurachenko YuA, Matusevich ES, Mardinskii YuS, Voznesenskaya NN. Radionuklidnaya vertebroplastika pri metastazah v pozvonochnike. Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost. 2012;57(3):46-52 (In Russ.)].
18. Вознесенский НК, Мардынский ЮС, Забарянский ЮГ, Кураченко ЮА, Матусевич ЕС, Вознесенская НН. Моделирование температурных полей в костной ткани позвонков при стабилизирующей вертебропластике. Радиационная онкология и ядерная медицина. 2012;(2):37-45 [Voznesenskii NK, Mardinskii YuS, Zabaryanskii YuG, Kurachenko YuA, Matusevich ES, Voznesenskaya NN. Modelirovanie temperaturnih polei v kostnoi tkani pozvonkov pri stabiliziruyuschei vertebroplastike. Radiacionnaya onkologiya i yadernaya medicina. 2012;(2):37-45 (In Russ.)].
19. Кураченко ЮА, Моисеенко ДН. Воксельные фантомы в задачах медицинской физики. Медицинская физика. 2012;(3):27-34 [Kurachenko YuA, Moiseenko DN. Vokselnie fantomi v zadachah medicinskoj fiziki. Medicinskaya fizika. 2012;(3):27-34 (In Russ.)].
20. Вознесенский НК, Мардынский ЮС, Вознесенская НН, Дорохович СЛ, Забарянский ЮГ. Моделирование гипертермии при стабилизирующей вертебропластике. Известия вузов. Ядерная энергетика. 2013;(1):133-143 [Voznesenskii NK, Mardinskii YuS, Voznesenskaya NN, Dorohovich SL, Zabaryanskii YuG. Modelirovanie gipertermii pri stabiliziruyuschei vertebroplastike. Izvestiya vuzov. Yadernaya energetika. 2013;(1):133-143 (In Russ.)].
21. Мигулева ИЮ, Савотченко АМ, Петухова МН, Папанинов АС, Ключкин ИЮ, Кислицына ОС. Две новые модели экспериментального дефекта кости на голени крысы для исследования регенерации костной ткани после пластики различными материалами. Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. 2015;2(53):34-43 [Miguleva IYu, Savotchenko AM, Petuhova MN, Papaninov AS, Klyukvin IYu, Kislicina OS. Dve novie modeli eksperimentalnogo defekta kosti na goleni krisi dlya issledovaniya regeneracii kostnoi tkani posle plastiki razlichnimi materialami. Voprosi rekonstruktivnoi i plasticheskoi hirurgii. 2015;2(53):34-43 (In Russ.)].

22. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. Под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М., 2010 [Rukovodstvo po laboratornym zivotnym i al'ternativnym modeljam v biomeditsinskih tehnologijah. Pod red. N.N. Karkishhenko, S.V. Gracheva. M., 2010 (In Russ.)].
23. Official Journal of the European Union 20.10.2010. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Перевод выполнен членами рабочей группы по переводу и изданию тематической литературы Rus-LASA Красильщиковой М.С. и Белозерцевой И.В. Доступно по: http://www.bio.msu.ru/res/DOC365/Dir_2010_63_Rus-LASA.pdf.
24. Wang Ch, Wang J, Jiang H, Zhu M, Chen B, Bao W. In Vitro Study on Apoptosis Induced by Strontium-89 in Human Breast Carcinoma Cell Line. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2011;7. Article ID 541487. DOI: 10.1155/2011/541487.

Статья поступила 12.01.2019 г., принята к печати 12.03.2019 г.
Рекомендована к публикации А.К. Валиевым.

Информационная страница

Дуфлот Владимир Робертович, АО «НИФХИ им. Л.Я. Карпова», Калужская область, г. Обнинск, директор по инновационной деятельности, доктор химических наук.

Ермаков Виктор Сергеевич, АО «НИФХИ им. Л.Я. Карпова», Калужская область, г. Обнинск, начальник центра

технологической поддержки производства, кандидат физико-математических наук.

Лобанова Екатерина Игоревна, АО «НИФХИ им. Л.Я. Карпова», Калужская область, г. Обнинск, ведущий технолог центра технологической поддержки производства.

Клементьева Ольга Евгеньевна, ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, г. Москва, зав. лабораторией доклинических и клинических исследований радиофармпрепаратов, кандидат биологических наук.

Красноперова Алина Сергеевна, ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, г. Москва, инженер лаборатории доклинических и клинических исследований радиофармпрепаратов.

Лунёва Кристина Андреевна, ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, г. Москва, инженер лаборатории доклинических и клинических исследований радиофармпрепаратов.

Дополнительные утверждения

Авторы согласны на публикацию представленной работы.

Авторы утверждают, что данная рукопись в настоящее время не представлена для публикации в другие издания и не была принята для публикации в других изданиях.

METASTATIC SPINE TUMORS (RADIONUCLIDE VERTEBROPLASTY) RADIOPHARMACEUTICAL AGENT STUDY BY PRE-CLINICAL ASSESSMENT OF THERAPEUTIC POTENTIAL

Duflot V.R.¹, Ermakov V.S.¹, Klementyeva O.E.², Krasnoperova A.S.², Lobanova E.I.¹, Luneva K.A.²

¹ Karpov institute of physical chemistry; 6, Kievskoe shosse, Kaluga region, Obninsk, 249033, Russia

² Burnasyan federal medical biophysical center of federal medical biological agency; 46, ul. Scenic, Moscow, 123182, Russia

Key words: radiopharmaceutical, samarium-153, kyphoplasty, radionuclide vertebroplasty, polymethyl methacrylate, pharmacokinetics, preclinical studies, bone cement, malignant tumors

The preclinical studies of the functional suitability (therapeutic potential) of a new radiopharmaceutical intended for radionuclide vertebroplasty were performed. In experiments on laboratory animals after 6 hours after filling the bone defect, the proportion of radiopharmaceutical retained was 99.89% on average. After 72 hours, the agent remained at the injection site by almost 100%, the accumulation of the agent in non-target organs and tissues was on the baseline, indicating a complete fixation of radiopharmaceutical in bone cement.

The condition of animals treated with radiopharmaceutical varied from almost complete failure to the full recovery of limbs activity (equivalent use of both limbs). This indicates not only a decrease in the severity of pain, but also a stabilization of the bone structure with impaired integrity. In the group of untreated animals, impaired function was not restored, at the autopsy, spontaneous fractures of the tibia bone were found in the area of the bone defect.

In vitro studies showed a slowdown in the formation of monolayer cells of the mammary adenocarcinoma in the culture flasks of the monolayer and their death on the 2nd day after the start of incubation in the presence of radiopharmaceutical. The results of the studies indicate the functional suitability of the developed.