

тигенам опухоли и после введения хелатора для конъюгации с радионуклидом. Для предотвращения снижения иммуногенности предлагается конъюгировать антитела с металлотиионеинами – низкомолекулярными белками, богатыми цистеином, и способными служить хелатором для ^{213}Bi [10]. Цель работы – изучить биораспределение ^{213}Bi –металлотиионеина (^{213}Bi –MT) и ^{213}Bi –иммуноглобулина (^{213}Bi –IgG) и сравнить их с $^{213}\text{BiCl}_3$.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

^{213}Bi в виде хлорида $^{213}\text{BiCl}_3$ был получен из АО “ГНЦ РФ – ФЭИ” (г. Обнинск, Россия).

Методики получения металлотиионеина (MT), иммуноглобулинов (IgG) к тиреоглобулину, а также методики конъюгации MT с IgG и получения ^{213}Bi –MT и ^{213}Bi –IgG подробно представлены в работе [11].

Для изучения биораспределения ^{213}Bi –MT, ^{213}Bi –IgG и $^{213}\text{BiCl}_3$ были использованы intactные беспородные мыши ($n = 36$), самки, с массой тела 20–25 г. Животным, поделенным на 3 равные группы, внутривенно (в хвостовую вену) было введено по 0.1 мл ^{213}Bi –MT, ^{213}Bi –IgG или $^{213}\text{BiCl}_3$ с активностью 0.37 МБк. После введения радиоактивных веществ животные содержались в изолированном помещении, специально предназначенном для работы с РФЛП. Все работы с экспериментальными животными проводились в соответствии с отечественными нормативами и современными международными биоэтическими стандартами по работе с лабораторными животными.

Через 5 мин, 1 и 3 ч после введения животных подвергали эвтаназии (по 4 животных на каждый срок) путем декапитации, изымали внутренние органы и ткани, помещали их в пластиковые пробирки, взвешивали и проводили радиометрию с помощью автоматического гамма-счетчика “Wizard” (версия 2480 “PerkinElmer/Wallac”, Финляндия). На момент введения в отдельные пробирки отбирали пробы ^{213}Bi –MT, ^{213}Bi –IgG и $^{213}\text{BiCl}_3$ в объеме 0.1 мл для использования в качестве стандарта введенной дозы.

По данным радиометрии на каждый срок наблюдения рассчитывали накопление ^{213}Bi –MT, ^{213}Bi –IgG или $^{213}\text{BiCl}_3$ в 1 г органа или ткани в процентах от введенного количества (%/г), а также общее содержание радиоактивности в органе или ткани (%) с использованием непосредственно полученных результатов взвешивания органов либо таблиц среднего веса соответствующих органов или тканей мышей.

Статистическая обработка результатов радиометрии выполнялась с помощью программы “Origin 2019b” с вычислением средних арифметиче-

ских значений (M) и стандартных ошибок среднего (m). Достоверность различий между группами оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с поправкой Бонферрони для попарных сравнений. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 и 2 представлены результаты биологического распределения ^{213}Bi –MT, ^{213}Bi –IgG и несвязанного ^{213}Bi в виде $^{213}\text{BiCl}_3$. В ряде внутренних органов отмечены существенные различия в биораспределении ^{213}Bi –MT и ^{213}Bi –IgG по сравнению с $^{213}\text{BiCl}_3$. Так, в крови содержание $^{213}\text{BiCl}_3$ (3.98–14.80%/г) было статистически значимо выше по сравнению с ^{213}Bi –MT и ^{213}Bi –IgG (табл. 1). Максимальные концентрации ^{213}Bi –MT и ^{213}Bi –IgG в крови не превышали 3.27 и 3.36%/г, снижаясь через 3 ч до 0.47 и 1.02%/г соответственно.

Обращает на себя внимание то обстоятельство, что через 5 мин после введения накопление ^{213}Bi –MT в почках (76.90%/г) выше, чем свободного ^{213}Bi (20.90%/г) и ^{213}Bi –IgG (37.60%/г). Через 1 ч после введения содержание ^{213}Bi –MT в почках возрастало до 132.00%/г и оставалось высоким (115.20%/г) и через 3 ч, в то время как содержание $^{213}\text{BiCl}_3$ в почках значительно снижается. Отмеченный феномен, очевидно, связан с тем, что уже через 1 ч происходит диссоциация комплекса ^{213}Bi –MT и почками абсорбируется свободный ^{213}Bi . Аналогичный результат наблюдался при введении ^{213}Bi –IgG, однако его уровень накопления в почках был ниже (до 79.20%/г) по сравнению с ^{213}Bi –MT.

В печени содержание ^{213}Bi –MT менялось незначительно: от 2.38 до 2.80%/г. Концентрация ^{213}Bi –IgG была чуть выше и составила 4.71–6.60%/г, тогда как концентрация $^{213}\text{BiCl}_3$ достигала 15.30%/г через 1 ч после введения (табл. 1).

Повышенные концентрации $^{213}\text{BiCl}_3$, по сравнению с ^{213}Bi –MT и ^{213}Bi –IgG, наблюдались в легких и селезенке. В легких накопление $^{213}\text{BiCl}_3$ снижалось за 3 ч с 13.20 до 6.13%/г, в то время как концентрации ^{213}Bi –MT и ^{213}Bi –IgG были статистически значимо ниже и составили 0.79–3.79%/г и 0.57–5.19%/г соответственно. Накопление $^{213}\text{BiCl}_3$ в селезенке возрастало с 3.08 до 10.40%/г в срок 1 ч после введения, снижаясь через 3 ч до 5.67%/г. В свою очередь, уровни ^{213}Bi –MT и ^{213}Bi –IgG не превышали 2.52 и 1.63%/г (табл. 1).

О диссоциации комплекса свидетельствует существенное увеличение уровня радиоактивности в щитовидной железе через 1 и 3 ч после введения

Таблица 1. Концентрация $^{213}\text{Bi-MT}$, $^{213}\text{Bi-IgG}$ и $^{213}\text{BiCl}_3$ в органах и тканях intactных мышей после внутривенного введения (в % от введенной дозы на 1 г органа или ткани)

Наименование органа, ткани	Наименование препарата	Время после введения		
		5 мин	1 ч	3 ч
Кровь	$^{213}\text{Bi-MT}$	$3.27 \pm 0.57^*$	$1.43 \pm 0.27^*$	$0.47 \pm 0.07^*$
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	$3.36 \pm 0.25^*$	$1.02 \pm 0.08^*$	$1.02 \pm 0.13^*$
	$^{213}\text{BiCl}_3$	12.50 ± 0.41	14.80 ± 2.90	3.98 ± 0.48
Щитовидная железа	$^{213}\text{Bi-MT}$	$18.20 \pm 2.19^*$	112.00 ± 9.24	80.00 ± 3.85
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	$14.90 \pm 1.73^*$	35.20 ± 8.13	27.50 ± 6.56
	$^{213}\text{BiCl}_3$	55.70 ± 13.80	67.20 ± 14.80	48.80 ± 5.25
Легкие	$^{213}\text{Bi-MT}$	$3.79 \pm 0.67^*$	$0.79 \pm 0.09^*$	$0.95 \pm 0.21^*$
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	$5.19 \pm 0.85^*$	$2.07 \pm 0.28^*$	$0.57 \pm 0.12^*$
	$^{213}\text{BiCl}_3$	13.20 ± 1.31	9.24 ± 2.59	6.13 ± 1.31
Печень	$^{213}\text{Bi-MT}$	2.66 ± 0.26	$2.80 \pm 0.69^*$	2.38 ± 0.25
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	4.71 ± 1.29	$6.60 \pm 0.46^*$	5.38 ± 1.21
	$^{213}\text{BiCl}_3$	3.19 ± 0.31	15.30 ± 3.40	4.75 ± 0.94
Почки	$^{213}\text{Bi-MT}$	$76.90 \pm 6.27^*$	132.00 ± 5.51	$115.20 \pm 13.00^*$
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	37.60 ± 5.11	79.20 ± 4.49	59.50 ± 6.05
	$^{213}\text{BiCl}_3$	20.90 ± 2.33	141.60 ± 39.30	53.90 ± 1.94
Сердце	$^{213}\text{Bi-MT}$	0.98 ± 0.09	2.03 ± 0.38	0.59 ± 0.14
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	0.81 ± 0.08	0.52 ± 0.10	0.18 ± 0.04
	$^{213}\text{BiCl}_3$	1.33 ± 0.34	1.38 ± 0.14	0.60 ± 0.16
Селезенка	$^{213}\text{Bi-MT}$	1.63 ± 0.33	$0.66 \pm 0.14^*$	$1.09 \pm 0.24^*$
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	2.18 ± 0.57	$2.52 \pm 0.18^*$	$1.38 \pm 0.36^*$
	$^{213}\text{BiCl}_3$	3.08 ± 0.96	10.40 ± 2.24	5.67 ± 0.96
Желудок	$^{213}\text{Bi-MT}$	0.90 ± 0.15	$0.26 \pm 0.04^*$	0.84 ± 0.20
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	0.95 ± 0.12	$0.77 \pm 0.07^*$	0.66 ± 0.18
	$^{213}\text{BiCl}_3$	1.65 ± 0.32	1.82 ± 0.34	0.40 ± 0.09
Кишечник	$^{213}\text{Bi-MT}$	1.35 ± 0.12	1.14 ± 0.28	0.80 ± 0.18
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	1.47 ± 0.20	1.11 ± 0.09	0.95 ± 0.07
	$^{213}\text{BiCl}_3$	1.16 ± 0.32	0.81 ± 0.18	0.86 ± 0.20
Мозг головной	$^{213}\text{Bi-MT}$	$0.07 \pm 0.01^*$	$0.10 \pm 0.01^*$	0.10 ± 0.02
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	$0.10 \pm 0.03^*$	0.12 ± 0.03	$0.45 \pm 0.10^*$
	$^{213}\text{BiCl}_3$	0.53 ± 0.09	0.29 ± 0.07	0.11 ± 0.02
Кожа	$^{213}\text{Bi-MT}$	0.87 ± 0.08	1.30 ± 0.30	0.65 ± 0.11
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	0.91 ± 0.10	1.45 ± 0.32	$0.74 \pm 0.16^*$
	$^{213}\text{BiCl}_3$	1.38 ± 0.36	0.95 ± 0.16	0.25 ± 0.02
Мышца бедра	$^{213}\text{Bi-MT}$	$0.41 \pm 0.06^*$	0.25 ± 0.06	0.12 ± 0.01
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	$0.42 \pm 0.08^*$	0.68 ± 0.10	0.48 ± 0.09
	$^{213}\text{BiCl}_3$	1.04 ± 0.19	0.43 ± 0.07	0.25 ± 0.06
Кость бедра	$^{213}\text{Bi-MT}$	1.04 ± 0.26	0.93 ± 0.23	0.94 ± 0.27
	$^{213}\text{Bi-IgG}$	1.77 ± 0.21	2.79 ± 0.29	1.22 ± 0.27
	$^{213}\text{BiCl}_3$	1.53 ± 0.25	1.94 ± 0.60	1.03 ± 0.24

* $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой ($^{213}\text{BiCl}_3$).

Таблица 2. Общее содержание ^{213}Bi –MT, ^{213}Bi –IgG и $^{213}\text{BiCl}_3$ в органах и тканях интактных мышей после внутривенного введения (в % от введенной дозы на весь орган или ткань)

Наименование органа, ткани	Наименование препарата	Время после введения		
		5 мин	1 ч	3 ч
Кровь	^{213}Bi –MT	$7.90 \pm 1.44^*$	$3.20 \pm 0.49^*$	$1.20 \pm 0.20^*$
	^{213}Bi –IgG	$8.50 \pm 0.54^*$	$2.20 \pm 0.13^*$	$2.60 \pm 0.40^*$
	$^{213}\text{BiCl}_3$	28.90 ± 1.29	35.60 ± 7.34	9.20 ± 1.18
Щитовидная железа	^{213}Bi –MT	0.02 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.08 ± 0.01
	^{213}Bi –IgG	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01
	$^{213}\text{BiCl}_3$	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.05 ± 0.01
Легкие	^{213}Bi –MT	$0.88 \pm 0.19^*$	$0.16 \pm 0.02^*$	$0.27 \pm 0.07^*$
	^{213}Bi –IgG	$1.27 \pm 0.27^*$	$0.40 \pm 0.06^*$	$0.13 \pm 0.03^*$
	$^{213}\text{BiCl}_3$	2.83 ± 0.15	2.06 ± 0.56	1.39 ± 0.35
Печень	^{213}Bi –MT	4.99 ± 0.49	$5.22 \pm 1.32^*$	4.49 ± 0.49
	^{213}Bi –IgG	8.77 ± 2.30	$12.40 \pm 0.86^*$	10.00 ± 2.29
	$^{213}\text{BiCl}_3$	6.12 ± 0.60	29.10 ± 6.27	8.88 ± 1.68
Почки	^{213}Bi –MT	$45.50 \pm 3.61^*$	58.00 ± 2.92	$56.20 \pm 2.50^*$
	^{213}Bi –IgG	$22.30 \pm 3.14^*$	35.30 ± 2.84	30.00 ± 2.94
	$^{213}\text{BiCl}_3$	8.63 ± 1.01	70.00 ± 18.60	23.20 ± 2.76
Сердце	^{213}Bi –MT	0.17 ± 0.01	0.29 ± 0.05	0.09 ± 0.02
	^{213}Bi –IgG	0.13 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.03 ± 0.01
	$^{213}\text{BiCl}_3$	0.19 ± 0.05	0.20 ± 0.02	0.09 ± 0.02
Селезенка	^{213}Bi –MT	0.24 ± 0.07	$0.11 \pm 0.03^*$	$0.16 \pm 0.03^*$
	^{213}Bi –IgG	0.25 ± 0.06	$0.33 \pm 0.03^*$	$0.22 \pm 0.05^*$
	$^{213}\text{BiCl}_3$	0.37 ± 0.12	1.36 ± 0.35	0.74 ± 0.15
Желудок	^{213}Bi –MT	0.16 ± 0.03	$0.04 \pm 0.01^*$	0.12 ± 0.01
	^{213}Bi –IgG	0.14 ± 0.03	$0.09 \pm 0.01^*$	0.11 ± 0.03
	$^{213}\text{BiCl}_3$	0.24 ± 0.03	0.29 ± 0.06	0.06 ± 0.01
Кишечник	^{213}Bi –MT	1.66 ± 0.14	1.43 ± 0.34	1.00 ± 0.24
	^{213}Bi –IgG	1.85 ± 0.23	1.35 ± 0.12	1.24 ± 0.10
	$^{213}\text{BiCl}_3$	1.48 ± 0.43	1.09 ± 0.24	1.03 ± 0.22
Мозг головной	^{213}Bi –MT	$0.03 \pm 0.01^*$	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01
	^{213}Bi –IgG	$0.04 \pm 0.01^*$	0.05 ± 0.01	0.17 ± 0.04
	$^{213}\text{BiCl}_3$	0.18 ± 0.04	0.08 ± 0.01	0.04 ± 0.01
Кожа	^{213}Bi –MT	5.40 ± 0.60	7.50 ± 1.45	4.18 ± 0.79
	^{213}Bi –IgG	5.90 ± 0.52	8.14 ± 1.90	4.90 ± 1.29
	$^{213}\text{BiCl}_3$	8.09 ± 2.00	5.83 ± 0.98	1.50 ± 0.11
Мышца бедра	^{213}Bi –MT	$6.30 \pm 1.02^*$	3.62 ± 0.74	1.89 ± 0.02
	^{213}Bi –IgG	$6.74 \pm 1.26^*$	9.42 ± 1.36	7.64 ± 1.33
	$^{213}\text{BiCl}_3$	15.20 ± 2.23	6.53 ± 0.91	3.80 ± 0.91
Кость бедра	^{213}Bi –MT	0.13 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.12 ± 0.04
	^{213}Bi –IgG	0.23 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.15 ± 0.03
	$^{213}\text{BiCl}_3$	0.19 ± 0.04	0.23 ± 0.07	0.13 ± 0.03

* $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой ($^{213}\text{BiCl}_3$).

^{213}Bi –МТ до 112.0 и 80.00%/г соответственно. Описанная закономерность отмечена и при введении комплекса ^{213}Bi –IgG, однако она менее выражена. Накопление ^{213}Bi –IgG варьировало от 14.90 до 35.20%/г, причем его содержание в сроки 1 и 3 ч было статистически значимо ниже по сравнению с ^{213}Bi –МТ (табл. 1).

В остальных внутренних органах и тканях содержание исследуемых меченых соединений было невысоким. При этом статистически значимые различия между уровнями накопления ^{213}Bi –МТ, ^{213}Bi –IgG и $^{213}\text{BiCl}_3$ были отмечены лишь в отдельные сроки исследования (табл. 1). Минимальная концентрация была зарегистрирована в головном мозге: не более 0.10%/г, 0.45%/г и 0.53%/г для ^{213}Bi –МТ, ^{213}Bi –IgG и $^{213}\text{BiCl}_3$ соответственно.

При анализе общего содержания меченых соединений было выявлено, что в большинстве внутренних органов, за исключением почек, концентрация $^{213}\text{BiCl}_3$ выше, чем ^{213}Bi –МТ и ^{213}Bi –IgG (табл. 2). Наиболее высокие уровни общего содержания ^{213}Bi –МТ, ^{213}Bi –IgG и $^{213}\text{BiCl}_3$ отмечались в крови, почках и мышечной ткани (табл. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, концентрации ^{213}Bi –МТ и ^{213}Bi –IgG практически во всех внутренних органах были ниже по сравнению с $^{213}\text{BiCl}_3$ ($p < 0.05$), либо не имели статистически значимых различий. Лишь в почках и щитовидной железе наибо-

лее высоким было содержание ^{213}Bi –МТ, что позволяет предполагать недостаточную стабильность комплекса ^{213}Bi –МТ *in vivo*, в связи с чем необходимо проведение дополнительных исследований для выбора оптимальных условий получения более стабильного комплекса ^{213}Bi –МТ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Alenkorah S., Cassells I., Deroose C.M., et al. // *Pharmaceutics*. 2021. V. 13 (5) P. 599.
2. Nelson B.J.B., Andersson J.D., Wuest F. // *Pharmaceutics*. 2021. V. 13 (1). P. 49.
3. Listek M., Hönow A., Gossen M., et al. // *Nat. Sci. Rep.* 2020. V. 10. P. 1664.
4. Fichou N., Gouard S., Maurel C., et al. // *Front. Med.* 2015. V. 2. P. 76.
5. Fazel J., Rötzer S., Seidl C., et al. // *Cancer Biol. Ther.* 2015. V. 16. P. 1526.
6. Jurcic J.G., Larson S.M., Sgouros G., et al. // *Blood*. 2002. V. 100. P. 1233.
7. Allen B.J., Singla A.A., Rizvi S.M.A., et al. // *Immunotherapy*. 2011. V. 3. P. 1041.
8. Raja C., Graham P., Abbas Rizvi S.M., et al. // *Cancer Biol. Ther.* 2007. V. 6. P. 846.
9. Autenrieth M.E., Seidl C., Bruchertseifer F., et al. // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2018. V. 45. P. 1364.
10. Si M., Lang J. // *J. Hematol. Oncol.* 2018. V. 11 (1). P. 107.
11. Petriev V.M., Skvortsov V.G., Novikova I.S., et al. // *Vopr. Biol. Med. Pharm. Khim.* 2009. No. 6. P. 46 (in Russian).

Biodistribution of ^{213}Bi –Metallothionein and ^{213}Bi –IgG in Intact Mice

V. M. Petriev^{1, 2, *}, V. K. Tishchenko¹, P. V. Shegai³, S. A. Ivanov^{1, 4}, and A. D. Kaprin^{3, 4}

¹Tsyb Medical Radiological Research Centre – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kaluga oblast, Obninsk, 249031 Russia

²National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute), Moscow, 115409 Russia

³National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kaluga oblast, Obninsk, 249036 Russia

⁴Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, 117198 Russia

*e-mail: vikshir82@mail.ru

Received May 31, 2022; revised May 31, 2022; accepted June 6, 2022

Abstract—The search of new approaches to development of radiopharmaceuticals based on antibodies and the retention of their specificity and affinity to antigens remains one of the most important problems of radiopharmaceutics. The metal-binding protein metallothionein has been proposed as a chelator for the α -emitting radionuclide ^{213}Bi . In this work the results of biodistribution study of ^{213}Bi –metallothionein (^{213}Bi –МТ), ^{213}Bi –immunoglobulin (^{213}Bi –IgG) and free ^{213}Bi in a form of $^{213}\text{BiCl}_3$ in intact mice are presented.

Keywords: bismuth-213, metallothionein, immunoglobulin, nuclear medicine