

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ 99m TС-МЕТАЛЛОТИОНЕИНА В ОРГАНИЗМЕ ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ

© 2025 г. В. К. Тищенко^a, А. А. Лебедева^a, А. В. Федорова^a, С. П. Орленко^a, Н. Г. Минаева^a, П. В. Шегай^{a, b}, С. А. Иванов^{a, c}, А. Д. Каприн^{b, c, d}

^aМедицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии МЗ РФ, Обнинск, Калужская область, 249031 Россия

^bНациональный медицинский исследовательский центр радиологии МЗ РФ, Обнинск, Калужская область, 249036 Россия

^cРоссийский университет дружбы народов, Москва, 117198 Россия

^dМосковский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии МЗ РФ, Москва, 125284 Россия

*E-mail: vikshir82@mail.ru

Поступила в редакцию 30.05.2023 г.

После доработки 06.06.2023 г.

Принята к публикации 12.06.2023 г.

Металлотионеины – особая группа низкомолекулярных белков, обладающих металловзвязывающей способностью, что делает их перспективными хелаторами для создания таргетных радиофармацевтических лекарственных препаратов, в том числе с технецием-99m. Целью данной работы стало изучение биораспределения коньюгата 99m Tc-металлотионеина (99m Tc-MT) в организме интактных мышей в сравнении с несвязанным технецием-99m ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$). Низкое накопление 99m Tc-MT в щитовидной железе ($1.20 \pm 0.30\%$ /г против $267.2 \pm 59.0\%$ /г для $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) свидетельствует о высокой стабильности 99m Tc-MT *in vivo*. Комплекс 99m Tc-MT быстро выводился из кровотока через почки и характеризовался пониженным накоплением в большинстве органов и тканей по сравнению с $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$.

Ключевые слова: металлотионенин, технеций-99m, радиофармпрепарат, ядерная медицина

DOI: 10.56304/S2079562924050476

ВВЕДЕНИЕ

Металлотионеины (MT) представляют собой низкомолекулярные (6–7 кДа) металловзвязывающие белки с высоким содержанием цистеина (13–35%) и отсутствием ароматических кислот [1]. Впервые металлотионеины были обнаружены и выделены в 1957 г. Margoshes и Vallee из коркового вещества почек лошадей [2]. Наиболее важной биологической функцией MT является их способность связывать ионы металлов, регулируя окислительно-восстановительный [3].

Способность MT связывать различные металлы позволяет рассматривать их в качестве компонента систем доставки радионуклидов. Технеций-99m (^{99m}Tc , $T_{1/2} = 6.01$ ч, $E_\gamma = 140.5$ кэВ) по-прежнему является наиболее используемым радионуклидом в диагностической ядерной медицине. Особый интерес представляют таргет-специфичные радиофармацевтические лекарственные препараты (РФЛП) с технецием-99m. Это соединения, содержащие связанные с радионуклидом биомолекулы, способные специфически взаимодействовать с определенными рецепторами опу-

холевых клеток. MT могут быть использованы в качестве бифункциональных хелатирующих агентов, способных связывать радионуклид ^{99m}Tc с таргетными биомолекулами и целенаправленно доставлять его к опухоли. К настоящему времени имеются лишь отдельные работы, демонстрирующие возможность связывания ^{99m}Tc с MT [4, 5], однако отсутствуют сведения о биологическом распределении таких комплексов. Поэтому цель данной работы – изучение биораспределения коньюгата ^{99m}Tc -металлотионеина ($^{99m}\text{Tc-MT}$) в сравнении с элюатом технеция-99m ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

^{99m}Tc в виде раствора $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ получали при элюировании изотоническим раствором (0.9% раствор NaCl) генератора $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ типа ГТ-4К производства АО “НИФХИ им. Л.Я. Карпова” (г. Обнинск, Россия).

Металлотионеин (MT) получали по методике, представленной в работе [6]. Мечение MT техне-

цием-99 m осуществлялось следующим образом: во флакон объемом 10 см³ помещали 0.2 мл раствора белка, содержащего 0.48 мг МТ, последовательно добавляли 0.8 мл 0.9%-ного натрия хлорида, 0.05 мл раствора хлорида олова (II), содержащего 20 мкг SnCl₂, и 1 мл раствора Na^{99m}TcO₄ (7.4 МБк). Полученную смесь перемешивали в течение 15 мин.

Для изучения биораспределения ^{99m}Tc-МТ и Na^{99m}TcO₄ были использованы интактные беспородные мыши ($n = 32$), самки, с массой тела 20–22 г. Животные были поделены на 2 равные группы ($n = 16$). Животным 1-й группы внутривенно (в хвостовую вену) вводили 0.37 МБк ^{99m}Tc-МТ в объеме 0.1 мл. Животным 2-й группы внутривенно вводили 0.1 мл Na^{99m}TcO₄ с активностью 0.37 МБк.

В определенные сроки (5 мин, 1, 3 и 24 ч) после введения ^{99m}Tc-МТ и Na^{99m}TcO₄ животных подвергали эвтаназии (по 4 животных на каждый срок) путем цervикальной дислокации, выделяли внутренние органы и ткани, помещали их в пластиковые пробирки, взвешивали и проводили радиометрию. Радиометрия выполнялась с помощью автоматического гамма-счетчика “Wizard” (версия 2480 “PerkinElmer/Wallac”, Финляндия). На момент введения в отдельные пробирки отбирали пробы ^{99m}Tc-МТ и Na^{99m}TcO₄ в объеме 0.1 мл для использования в качестве стандарта введенной дозы.

По данным радиометрии на каждый срок наблюдения рассчитывали накопление ^{99m}Tc-МТ и Na^{99m}TcO₄ в 1 г органа или ткани в процентах от введенного количества (%/г).

Все работы с экспериментальными животными проводились в соответствии с отечественными нормативами и современными международными биоэтическими стандартами по работе с лабораторными животными [7, 8].

Статистическая обработка результатов радиометрии выполнялась с помощью программы “Origin 2019b” с вычислением средних арифметических значений (M) и стандартных ошибок среднего (m). Достоверность различий между группами оценивали с помощью *U*-критерия Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения биораспределения конъюгата ^{99m}Tc-МТ и пертехнетата натрия (Na^{99m}TcO₄) по органам и тканям интактных мышей после однократного внутривенного введения представлены на рис. 1.

Как следует из представленных данных, свободный технеций-99 m определялся преимуще-

ственno в щитовидной железе, поступление в которую осуществляется за счет работы натрий-йод симпортера – белка, участвующего в поглощении йодида фолликулярными клетками щитовидной железы [9]. Максимальное накопление Na^{99m}TcO₄ (267.2 ± 59.0%/г) наблюдалось через 1 ч после введения препарата и удерживалось на высоком уровне (238.9 ± 55.4%/г) в течение 3 ч. Лишь через 24 ч накопление свободного технеция-99 m снижалось до 34.2 ± 3.81%/г. При инъекции ^{99m}Tc-МТ накопление его в щитовидной железе отмечалось в следовых количествах (0.79–1.20%/г), что свидетельствует о том, что распад ^{99m}Tc-МТ на свободный технеций и МТ в организме не происходил, т.е. исследуемый конъюгат обладал высокой стабильностью *in vivo*.

Первичным местом катаболизма ^{99m}Tc-МТ являются почки, поэтому в этом месте комплекс накапливался наиболее активно и удерживался там в значительных количествах (115.4–299.5%/г) вплоть до 24 ч (рис. 1). Накопление Na^{99m}TcO₄ в почках, напротив, было статистически значимо ниже (0.88–30.0%/г) по сравнению с ^{99m}Tc-МТ.

Обращает на себя внимание тот факт, что комплекс ^{99m}Tc-МТ довольно быстро выводился из кровотока. Начальная концентрация ^{99m}Tc-МТ в крови составила 3.10 ± 0.16%/г, снижаясь к концу исследования до 0.21 ± 0.02%/г. В то же время уровень свободного технеция был более высоким изначально (7.78 ± 0.78%/г) и сохранялся на высоком уровне более продолжительное время (рис. 1).

Заметного накопления ^{99m}Tc-МТ и Na^{99m}TcO₄ в других органах и тканях отмечено не было, и обнаруживаемая там активность, по-видимому, обусловлена кровенаполнением органов. Относительно высокое накопление Na^{99m}TcO₄ (до 20.4%/г) было зарегистрировано в желудке (рис. 1), что, вероятно, обусловлено экспрессией натрий-йод симпортера в тканях желудка [9, 10]. Так, в большинстве внутренних органов и тканей (легкие, сердце, желудок, тонкая кишка, кожа, мышца и бедренная кость) содержание ^{99m}Tc-МТ было статистически значимо ниже, чем Na^{99m}TcO₄, тогда как в печени, селезенке и головном мозге уровни накопления ^{99m}Tc-МТ и Na^{99m}TcO₄ не имели статистически значимых различий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при проведении исследований была продемонстрирована высокая стабильность конъюгата ^{99m}Tc-МТ *in vivo*, быстрое выведение из кровотока, почечный клиренс препарата и низкое накопление в большинстве органов и тканей по сравнению с пертехнетатом натрия Na^{99m}TcO₄. Конъюгат ^{99m}Tc-МТ может быть использован для

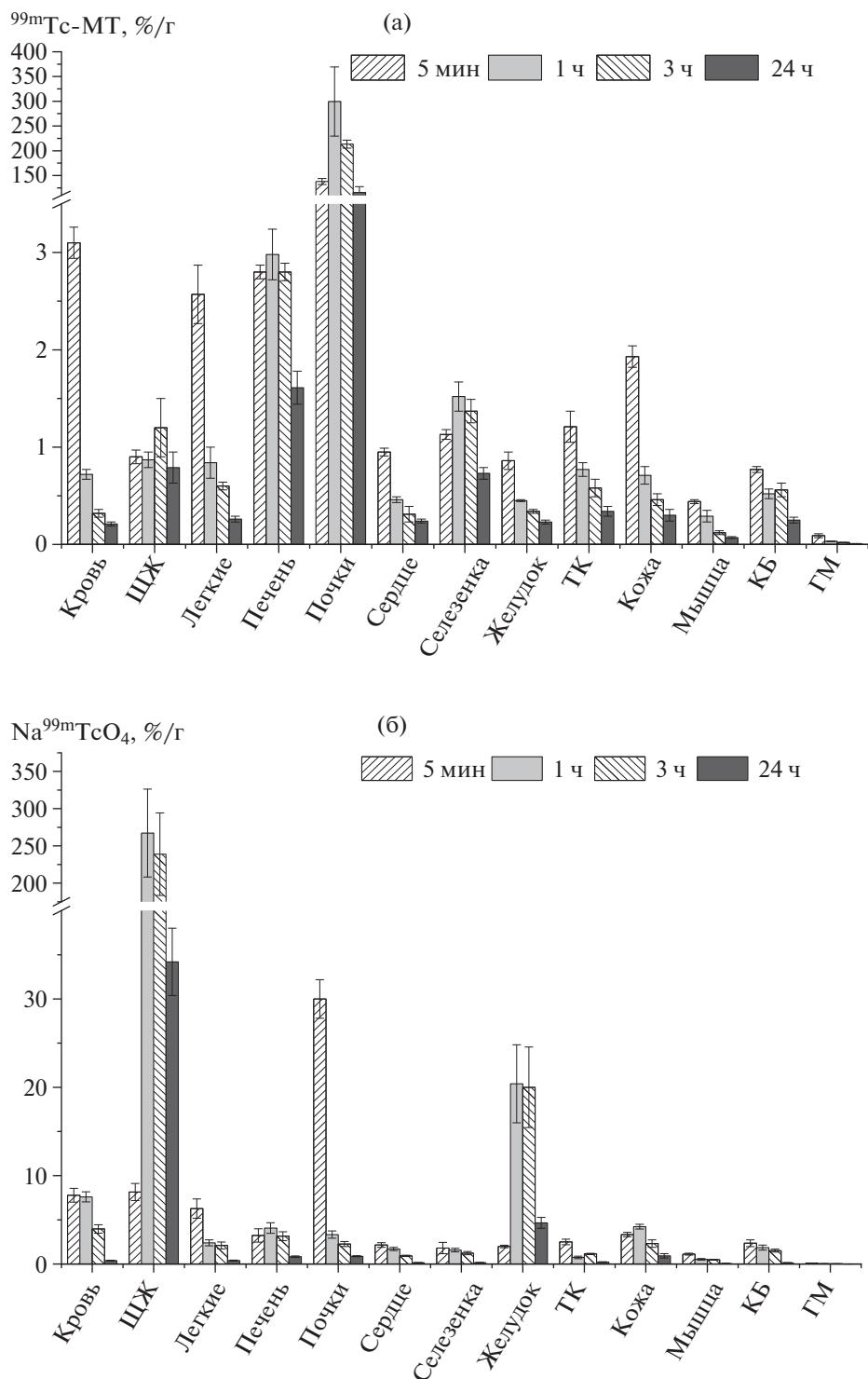


Рис. 1. Концентрация ^{99m}Tc -МТ (А) и $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ (Б) в органах и тканях интактных мышей в различные сроки после однократного внутривенного введения. ЩЖ – щитовидная железа, ТК – тонкая кишечника, КБ – кость бедра, ГМ – головной мозг.

дальнейшего синтеза радиофармацевтических препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Ziller A., Fraissinet-Tachet L. // Metallomics. 2018. V. 10 (11). P. 1549.
2. Nordberg M., Nordberg G.F. // Biomolecules. 2022. V. 12 (3). P. 360.
3. Rodrigo M.A.M., Jimenez A.M.J., Haddad Y., et al. // Drug Resist. Updat. 2020. V. 52. P. 100691.
4. Lecina J., Palacios O., Atrian S., et al. // J. Biol. Inorg. Chem. 2015. V. 20 (3). P. 465.
5. Jones W.B., Elgren T.E., Morelock M.M., et al. // Inorg. Chem. 1994. V. 33. P. 5571.
6. Petriev V.M., Skvortsov V.G., Novikova I.S., et al. // Vopr. Biol. Med. Farmats. Khim. No. 6. P. 46.
7. Guidelines for the use of laboratory animals for the staff of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia involved in preclinical trials. 2020. Moscow.
8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals, which are Used for Experimental or Other Scientific Purposes. <https://rm.coe.int/168007a6a8>.
9. Singh N., Lewington V. // Clin. Med. (London). 2017. V. 17 (5). P. 453.
10. Chung J.K. // J. Nucl. Med. 2002. V. 43 (9). P. 1188.

Experimental Study of 99m Tc-Metallothionein Biodistribution in Intact Animals

V. K. Tishchenko¹, *, A. A. Lebedeva¹, A. V. Fedorova¹, S. P. Orlenko¹,
N. G. Minaeva¹, P. V. Shegai^{1,2}, S. A. Ivanov^{1,3}, and A. D. Kaprin^{2,3,4}

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

²National Medical Research Radiological Centre, Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Kaluga oblast, 249036 Russia

³Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, 117198 Russia

⁴Hertsen Moscow Oncology Research Institute, Branch of the National Medical Research Radiological Centre, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 125284 Russia

*e-mail: vikshir82@mail.ru

Received May 30, 2023; revised June 6, 2023; accepted June 12, 2023

Abstract—Metallothioneins are a special group of low-molecular-weight proteins with metal-binding properties, which make them promising chelators for the development of targeted radiopharmaceuticals, as well as with technetium-99m. The aim of this work was to investigate the biodistribution of 99m Tc-metallothionein conjugate (99m Tc-MT) in intact mice and compared it with unbound technetium-99m ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$). Low uptake of 99m Tc-MT in the thyroid gland ($1.20 \pm 0.30\%/\text{g}$ versus $267.2 \pm 59.0\%/\text{g}$ for $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) demonstrated high stability of 99m Tc-MT *in vivo*. The 99m Tc-MT complex was rapidly eliminated from the bloodstream through the kidneys and was characterized by a reduced uptake in most organs and tissues compared to $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$.

Keywords: metallothionein, technetium-99m, radiopharmaceutical, nuclear medicine