

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПРИГОДНОСТИ КОЛЛОИДНЫХ РАДИОФАРМПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СТОРОЖЕВЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

И.Г. Синилкин¹, В.И. Чернов¹, Р.В. Зельчан¹, А.А. Медведева¹, О.Д. Брагина¹,
В.С. Скуридин², Е.С. Стасюк², Е.А. Нестеров², Н.В. Варламова²

¹ НИИ онкологии Томского Национального медицинского исследовательского центра, Томск

² Томский политехнический университет, Томск

Проведено экспериментальное сравнительное изучение фармакокинетики различных коллоидных радиофармпрепаратов. Получена радиометрическая оценка динамики накопления РФП в сторожевых лимфатических узлах (СЛУ) и других органах экспериментальных животных. Показано, что созданный коллоид на основе гамма-оксида алюминия в несколько раз активнее накапливается в лимфатических узлах по сравнению с аналогами и что его практическое применение позволит существенно облегчить интраоперационное выявление СЛУ в клинических условиях.

Ключевые слова: *технеций-99m, коллоидные радиофармпрепараты, сторожевые лимфатические узлы, визуализация*

Введение

Диагностика злокачественных новообразований остается одной из актуальных проблем современной медицины. Вместе с тем, важным аспектом клинической онкологии является не только выявление опухолевого процесса, но и адекватное стадирование на этапе хирургического лечения. Одной из наиболее частых причин прогрессирования злокачественных новообразований является лимфогенное метастазирование [1].

Основными методами дооперационного исследования регионарного лимфатического аппарата являются ультразвуковое сканирование (УЗИ), компьютерная (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ). У данных методов имеются, как преимущества (высокая разре-

шающая способность, возможность стандартизации, неинвазивность, а для УЗИ – невысокая стоимость и достаточная простота проведения), так и недостатки (низкая специфичность в выявлении регионарных метастазов в лимфатических узлах) [2, 3].

Хирургическое лечение опухолевого процесса, в радикальном объеме предполагает иссечение первичной опухоли и регионарных лимфоузлов, но возникает вопрос адекватности выбора объема оперативного вмешательства [3–5]. Проведение расширенных лимфодиссекций у больных с ранними стадиями процесса приводит к росту числа осложнений, ухудшению качества жизни пациентов после операции, удлинению послеоперационного периода. Однако невозможность на дооперационном этапе с абсолютной уверенностью утвер-

ждать об отсутствии либо наличии метастатического поражения регионарных лимфоузлов подталкивает к выполнению максимального объема резекции, так как достоверным критерием метастатического поражения лимфоузлов является только гистологическое либо иммуногистохимическое исследование препарата [6, 7].

Одним из выходов в сложившейся ситуации является применение концепции сторожевых лимфатических узлов. Сторожевые лимфатические узлы (СЛУ) представляют собой первые лимфоузлы, к которым оттекает лимфа от злокачественной опухоли. Фильтруя афферентную лимфу, они становятся “капканом” для злокачественных клеток, поэтому биопсия СЛУ является объективным диагностическим критерием распространенности злокачественного процесса. Полагают, что если СЛУ не поражены метастатическим процессом, то все остальные регионарные лимфоузлы интактны [8–11].

В существующей мировой практике коллоидные препараты, меченные короткоживущим радионуклидом технецием-99m (^{99m}Tc), достаточно широко используются для проведения диагностических лимфосцинтиграфий, и разновидностью данного исследования является визуализация СЛУ. К числу таких препаратов относятся коллоидные растворы на основе фитина (солей инозитгексафосфорной кислоты) и сульфида рения.

Все эти коллоидные препараты изготавливаются на основе соединений, образующих устойчивые гидрозоли, получаемые по достаточно сложным технологиям. При этом решающим фактором успеха является не их химический состав, а размер частиц. Известно, например, что оптимальный размер частиц для проведения лимфосцинтиграфии составляет 20–100 нм. Такие частицы выводятся из тканей со скоростью проникновения в кровяное русло [12].

Учитывая отсутствие зарегистрированных в Российской Федерации препаратов для визуализации СЛУ, в работах [13, 14] был предложен более простой способ получения меченных технецием-99m коллоидов – путем проведения адсорбции восстановленного ^{99m}Tc на наноразмерных порошках гамма-оксида алюминия, включающий приготовление водной суспензии из порошка гамма-оксида алюминия и последующее добавление к ней элюата технеция-99m [15]. Технология приготовления радиофармацевтического препарата (РФП) на ос-

нове меченого технецием-99m гамма-оксида алюминия ($^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$) была впервые разработана в Томском политехническом университете в рамках совместного проекта с НИИ онкологии Томского НМИЦ “Доклинические исследования нового лимфотропного радиофармацевтического препарата на основе меченого технецием-99m гамма-оксида алюминия” (ФЦП “Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу”).

Цель – сравнительное изучение функциональной пригодности РФП на основе гамма-оксида алюминия, фитина и сульфида рения для визуализации сторожевых лимфатических узлов в эксперименте.

Материал и методы

Были исследованы три коллоидных препарата на основе гамма-оксида алюминия, фитина и сульфида рения, меченных 99m-технецием.

1. Изучение фармакокинетики коллоидных РФП, меченных ^{99m}Tc , выполняли на белых крысах-самцах линии Вистар массой 200–250 г. Препараты вводились подкожно в подошвенную сторону правой задней конечности (вводимая активность 20 МБк, объемная активность 200 МБк/мл). Через установленные временные промежутки (1, 2, 3, 5 и 24 ч), согласно рекомендациям, проводился вывод животных из эксперимента путем декапитации под наркозом. В каждом временном интервале, для каждого РФП эксперимент выполнялся на 5 особях. После извлечения органы животных упаковывались во флаконы для прямой радиометрии и взвешивания. Радиометрия биопроб (содержание РФП в процентах от введенного количества на 1 мл крови или 1 г органа или ткани) выполнялась на радиометре РИС-1А (НТО “Амплитуда”).
2. Сравнение возможностей визуализации СЛУ коллоидными РФП изучали в эксперименте на 15 белых крысах-самцах линии Вистар массой 300–350 г (по 5 животных для каждого препарата). Препараты вводились подкожно в подошвенную сторону правой задней конечности (вводимая активность 20 МБк, объемная активность 200 МБк/мл). Согласно рекомендациям, введение препарата и последующие скintiграфические ис-

следования осуществляли под ингаляционным наркозом этиловым эфиром. Планарные сцинтиграфические исследования выполнялись на гамма-камере E-CAM Signature 180 (Siemens, США) при настройке дифференциального дискриминатора на фотопик 140 кэВ, с шириной окна 20 %. Непосредственно после инъекции РФП, распределение препаратов в организме животного фиксировалась в течение 15 мин (1 кадр в минуту), матрица 64×64 пиксела. Последующие исследования проводились в статическом режиме через 1, 2, 3 и 24 ч, с набором по 500 тыс. импульсов на каждое изображение, матрица 256×256. По результатам сцинтиграфических исследований вычисляли накопление препаратов в паховом лимфатическом узле по отношению к месту инъекции (%).

Содержание и участие животных в эксперименте, осуществляли в соответствии с правилами, принятыми "Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях" (Страсбург, 1986).

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением пакета программ Statistica компании StatSoft.Inc, версия 6.0, с использованием описательной статистики (Descriptive statistics) и непараметрического критерия Вилкоксона для оценки межгрупповых различий. Во всех процедурах статистического анализа уровень значимости p принимался равным 0,05. Результаты представлены как M (среднее значение) $\pm SD$ (стандартное отклонение).

Результаты исследований и их обсуждение

Радиометрия биопроб органов экспериментальных животных показала, что и коллоидные препараты покидают место инъекции с различной скоростью. Показано, что радиофармпрепараты на основе гамма-оксида алюминия и сульфида рения более активно мигрируют в паховые лимфатические узлы по сравнению с препаратом на основе фитина. Данный результат объясняется различными диаметрами коллоидных частиц, препараты меньшего размера имеют больший потенциал для диффузии с током лимфы. Так, в месте введения препаратов на основе гамма-оксида алюминия и сульфида

рения уже через 1 ч остается не более 70 % от введенной активности, через 24 ч в подкожном депо сохранялось около половины введенной активности. Препарат же на основе фитина значительно медленнее покидает место инъекции: через 1 ч – не более 15 %, через 24 ч – 30 %. В дальнейшем препараты, достигая пахового лимфатического узла, имеют свои особенности распределения. Радиофармпрепарат на основе гамма-оксида алюминия, накапливаясь в паховом лимфатическом узле, достаточно быстро достигает уровня приблизительно 10 % и с незначительными колебаниями данное "плато" поддерживается до 24 ч (табл. 1). Следует отметить, что на всех сроках средняя аккумуляция РФП в лимфатическом узле было статистически значимо выше накопления других индикаторов.

Сульфид рения, меченный технецием-99m, обладает схожими характеристиками, отличием является более низкая его аккумуляция в паховом лимфатическом узле, на уровне 3,5 % от введенной дозы (табл. 1).

Поступившие через грудной лимфатический проток в кровь радиоактивные индикаторы, отличались различной фармакокинетикой. Препараты на основе рения и фитина весьма активно захватывались печенью и селезенкой. В печени уровень накопления сульфида рения возрастал от 6,6 % через 1 ч после инъекции до 18,3 % к 24 ч исследования, для фитина эти значения составили 2,6 и 7,2 % соответственно. В селезенке величина их аккумуляции колебалась от 1,3 % (1 ч) до 3,6 % (24 ч) и от 0,2 % (1 ч) до 0,6 % (24 ч) соответственно. Препарат на основе гамма-оксида алюминия активнее накапливался почками и выводился с мочой. Следует отметить незначительное содержание исследуемых РФП в сердце, легких и крови, где регистрировалось менее 1 % от введенной радиоактивности.

Результаты экспериментальных исследований функциональной пригодности для проведения лимфосцинтиграфии на животных в целом соответствовали радиометрическим измерениям уровня радиоактивности в биопробах. По данным динамических сцинтиграфических исследований экспериментальных животных было показано, что препараты на основе гамма-оксида алюминия и сульфида рения активно поступают в лимфатическую систему из места инъекции (табл. 2). Через 2 ч в депо оставалось 57 % и 50,5 % от введенной дозы обоих радиофармпрепаратов. Через 24 ч в месте введения сохранялось менее половины ра-

Таблица 1

Содержание ^{99m}Tc в органах и тканях крыс в различные сроки после подкожного введения РФП по данным прямой радиометрии

Время	Место введения	СЛУ	Кровь	Печень		Селезенка	
	%	%	%/мл	%	%/г	%	%/г
РФП на основе гамма-оксида алюминия							
1 ч	68,3±5,3	8,6±1,1*	0,9±0,1	3,8±1,2	0,3±0,1	0,5±0,4	0,2±0,2
2 ч	57,0±8,7	10,5±1,6*	0,3±0,1	3,6±1,1	0,3±0,1	0,7±0,6	0,3±0,3
3 ч	53,6±5,0	11,2±1,6*	0,3±0,1	4,1±2,4	0,4±0,1	1,1±0,9	0,5±0,4
5 ч	51,1±5,2	11,8±1,9*	0,3±0,1	8,8±1,8	0,8±0,2	1,3±0,8	0,6±0,4
24 ч	46,7±6,7	12,8±1,4*	0,3±0,1	9,1±1,6	0,9±0,1	1,5±0,9	0,8±0,4
РФП на основе сульфида рения							
1 ч	66,3±3,2	1,8±1,2	0,2±0,1	6,6±0,3	0,6±0,2	1,3±0,2	0,7±0,1
2 ч	59,0±4,1	3,6±2,4	0,2±0,2	10,5±0,9	0,9±0,2	2,1±0,3	1,1±0,2
3 ч	55,5±5,7	3,6±1,8	0,3±0,1	13,9±2,1	1,2±0,2	2,8±0,5	1,4±0,2
5 ч	53,2±4,9	3,6±1,7	0,3±0,1	16,3±1,9	1,4±0,3	3,3±0,7	1,6±0,2
24 ч	51,2±4,3	3,2±1,0	0,3±0,1	18,3±1,4	1,5±0,3	3,6±0,6	1,8±0,2
РФП на основе фитина							
1 ч	85,3±3,15	0,4±1,2	0,1±0,1	2,6±0,4	0,3±0,2	0,2±0,2	0,1±0,1
2 ч	78,0±4,1	0,6±2,4	0,1±0,2	2,8±0,9	0,4±0,1	0,2±0,3	0,1±0,1
3 ч	75,5±5,7	0,7±1,8	0,1±0,2	3,1±2,1	0,4±0,4	0,3±0,5	0,1±0,1
5 ч	73,2±4,9	1,1±1,7	0,1±0,1	4,3±2,1	1,2±0,1	0,3±0,7	0,2±0,2
24 ч	69,3±4,3	1,3±1,0	0,1±0,1	7,2±2,5	1,7±0,3	0,6±0,6	0,3±0,2

* $p < 0,05$ % по сравнению с другими коллоидами

диоактивного индикатора. РФП же на основе фитина ожидаемо обладал более низкой скоростью элиминации из точки инъекции, через 2 ч в ней определялось 88,5 % индикатора.

При использовании препарата на основе гамма-оксида алюминия визуализация пахового лимфатического узла возможна через 15 минут после инъекции у всех животных, когда в нем накапливалось около 1 % от введенной активности РФП. Последующее наблюдение показало, что препарат достигает плато аккумуляции в лимфатическом узле (в среднем 10,5 %) на 2-м часу исследования (рис. 1), после чего накопление сохраняется практически на том же уровне, незначительно увеличиваясь до 12 % к 24 ч. В случае применения индикатора на основе сульфида рения паховый лимфатический узел у всех животных визуализировался также на 15-й минуте, когда в нем накапливалось в среднем 1 % от введенной активности. Плато аккумуляции РФП в нем (в среднем 2 %) наступало на 2-м часу исследования и сохранялось практически на этом уровне (в среднем 2,3 %) до 24 ч. Визуализация СЛУ при сцинтиграфии с препаратом на основе фитина наступает в более поздние сроки,

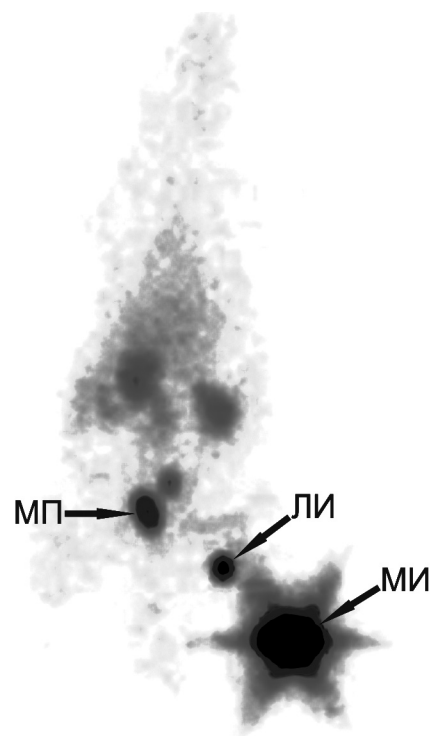


Рис. 1. Сцинтиграмма крысы через 2 ч после инъекции РФП на основе гамма-оксида алюминия (МП – мочевой пузырь, ЛИ – лимфатический узел, МИ – место инъекции)

Таблица 2

**Содержание ^{99m}Tc в месте инъекции и паховом лимфатическом узле
после подкожного введения коллоидных РФП по данным сцинтиграфии**

Локализация	Время после инъекции	Среднее накопление РФП, %		
		Гамма-оксид алюминия	Сульфат рения	Фитин
Место инъекции	5 мин	76,8 \pm 3,7	82,7 \pm 5,0	95,6 \pm 5,0
	15 мин	71,3 \pm 4,2	67,7 \pm 3,0	89,7 \pm 3,0
	1 ч	68,2 \pm 5,3	55,7 \pm 4,8	88,3 \pm 4,8
	2 ч	57,0 \pm 8,6	50,5 \pm 5,1	88,5 \pm 5,1
	3 ч	53,5 \pm 4,9	47,7 \pm 4,6	87,7 \pm 4,6
	24 ч	46,7 \pm 6,8	35,3 \pm 3,3	85,3 \pm 3,3
Паховый лимфатический узел	5 мин	0,9 \pm 0,2	0,9 \pm 0,2	0,3 \pm 0,2
	15 мин	1,2 \pm 0,13	1,1 \pm 0,2	0,3 \pm 0,2
	1 ч	8,6 \pm 1,1	1,4 \pm 0,8	0,4 \pm 0,1
	2 ч	10,5 \pm 1,6	2,1 \pm 1,6	0,5 \pm 0,2
	3 ч	11,1 \pm 1,2	2,2 \pm 1,5	0,5 \pm 0,3
	24 ч	12,0 \pm 1,4	2,3 \pm 1,4	0,6 \pm 0,3

приблизительно через 2–3 ч после инъекции и сохраняется также до 24 ч.

Таким образом, было установлено, что препараты, имеющие в своем составе более мелкие фракции коллоидов, меченных технецием- 99m , позволяют визуализировать СЛУ через 15–30 мин после инъекции РФП, сохраняя высокий уровень накопления в течении 24 ч. Радиофармпрепарат на основе фитина можно применять для выявления СЛУ, но введение его должно проводиться за 6–24 ч до операции.

В онкологической практике место инъекции РФП нередко располагается в непосредственной близости со сторожевым лимфатическим узлом, что затрудняет его визуализацию [1, 4]. Учитывая установленный нами факткратно более высокой аккумуляции препарата на основе гамма-оксида алюминия в СЛУ по сравнению с другими коллоидами, его клиническое использование позволит облегчить интраоперационное выявление таких узлов.

Выводы

Сравнительное изучение функциональной пригодности различных коллоидных РФП в эксперименте доказало преимущество радиофармпрепарата, изготовленного на основе гамма-оксида алюминия, меченного технецием- 99m , для визуализации сторожевых лимфатических узлов, по сравнению с аналогами.

Список литературы

1. Schauer A.J. et al. The Sentinel Lymph Node Concept. – Springer, Berlin Heidelberg New York. 2005. P. 565–573.
2. Jimenez I.R., Roca M., Vega E. et al. Particle sizes of colloids to be used in sentinel lymph node radio localization // Nucl. Med. Commun. 2008. Vol. 29. P. 166–172.
3. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г. и соавт. Опыт разработки инновационных радиофармпрепаратов в Томском НИИ онкологии // Сибирский онкол. журн 2015. № 2. С. 45–47.
4. Chernov V., Sinilkin I., Choynzonov E. et al. Comparative evaluation of ^{99m}Tc - Al_2O_3 and ^{99m}Tc -fitat nanocolloids for sentinel lymph nodes visualization in patients with cancer of larynx and hypopharynx // Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 2015. Vol. 42. № 1. P. 704–708.
5. Криворотько П.В., Дашян Г.А., Палтуев Р.М. и соавт. Биопсия сигнальных лимфатических узлов при раке молочной железы // Злокачественные опухоли. 2016. № 4–1 (21). С. 4–8.
6. Kim M.C., Kim H.H., Jung G.J. et al. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy using ^{99m}Tc tin colloid in gastric cancer // Ann. Surg. 2004. Vol. 239. P. 383–387.
7. Ахметов И. Р., Важенин А. В., Привалов А. В., Анищенко И. С. Меланома кожи: тактика хирургического лечения в отношении регионарных лимфатических узлов (обзор ли-

- температуры) // Сибирский онкол. журнал. 2006. № 3. С. 68–73.
8. Paredes P. Clinical relevance of sentinel lymph node in the internal mammary chain in breast cancer patients // *Q. J. Nucl. Med.* 2005. Vol. 32. № 11. P. 1283–1287.
9. Wissmann C., Detmar M. Pathways targeting tumor lymphangiogenesis // *Clin Cancer Res.* 2006. Vol. 12. № 23. P. 6865–6868.
10. Leong S. P., Stemmetz I., Habib A. et al. Optimal selective sentinel lymph node dissection in primary malignant melanoma // *Arch. Surg.* 1997. Vol. 132. P. 666–673.
11. Рыжков А.Д., Билик М.Е., Крылов А.С. и соавт. Сцинтиграфия и ОФЭКТ/КТ сторожевых лимфатических узлов в планировании оперативного вмешательства при раке молочной железы // *Мед. радиол. и радиац. безопасность.* 2018. Т. 63. № 4. С. 50–57.
12. Канаев С.В., Новиков С.Н., Жукова Л.А. и соавт. Использование данных радионуклидной визуализации индивидуальных путей лимфооттока от новообразований молочной железы для планирования лучевой терапии // *Вопросы онкологии.* 2011. Т. 57. № 5. С. 616–621.
13. McGregor A., Kim S., Norwich-Cavanaugh A. et al. Clinical Value of Single-photon Emission Computed Tomography Combined With Computed Tomography for Sentinel Lymph Node Identification in Melanoma // *Ann. Plast. Surg.* 2019. Apr;82 (4S Suppl 3) S192–S194. DOI: 10.1097.
14. Wu M.P., Sethi R.K.V., Emerick K.S. Sentinel lymph node biopsy for high-risk cutaneous squamous cell carcinoma of the head and neck // *Laryngoscope.* 2019. Mar 7. DOI: 10.1002/lary.27881.
15. Скуридин В.С., Чернов В.И., Варламова Н.В. и соавт. Исследование функциональной пригодности радиофармпрепарата «Нанокolloид $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ » для сцинтиграфического и интраоперационного выявления «сторожевых» лимфатических узлов // *Диагн. и интервенц. радиология.* 2015. Т. 9. № 3. С. 76–80.

COMPARATIVE EVALUATION OF THE FUNCTIONAL SUITABILITY OF COLLOIDAL RADIOPHARMACEUTICALS FOR VISUALIZATION OF SENTINEL LYMPH NODES IN THE EXPERIMENT

I.G. Sinilkin¹, V.I. Chernov¹, R.V. Zelchan¹, A.A. Medvedeva¹, O.D. Bragina¹, V.S. Skuridin²,
E.S. Stasyuk², E.A. Nesterov², N.V. Varlamova²

¹ Cancer Research Institute, Tomsk, Russia

² Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

An experimental study of the pharmacokinetics of various colloidal radiopharmaceuticals has been carried out. Radiometric evaluation of the dynamics of accumulation of radiopharmaceuticals in sentinel lymph nodes (SLN) and other organs of experimental animals was made. It has been shown that the created colloid based on gamma-oxide aluminum accumulates several times more actively in the lymph nodes as compared with analogues and that its practical application will significantly facilitate the intraoperative detection of SLN.

Key words: *technetium-99m, colloidal radiopharmaceuticals, sentinel lymph nodes, visuulization*

E-mail: sinilkin@tnimc.ru