DOI: 10.21870/0131-3878-2017-26-2-62-71

Фармакокинетика наноалмазов, меченных ^{188}Re , в организме мышей с экспериментальной карциномой Эрлиха

Петриев В.М.^{1,2}, Тищенко В.К.¹, Михайловская А.А.¹, Коноплянников А.Г.¹

¹ МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, Обнинск;

² Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва

Адресная доставка радионуклидов непосредственно к опухолевому очагу является важной задачей радионуклидной терапии рака. В этой связи огромный интерес представляют наноалмазы (НА), которые могут применяться для селективной доставки терапевтических радионуклидов в опухолевую ткань. Целью данной работы было изучение фармакокинетических свойств НА, меченных ^{188}Re (^{188}Re -НА), при различных путях их введения. Экспериментальные исследования выполняли на мышах с солидным вариантом карциномы Эрлиха при внутриопухолевом, внутривенном и внутривенном введении ^{188}Re -НА. В качестве контроля служили результаты фармакокинетики свободного ^{188}Re в виде перрената натрия ($\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$) после внутриопухолевого введения. Согласно полученным результатам максимальное содержание активности в опухоли отмечалось при внутриопухолевом введении ^{188}Re -НА и достигало 98,5%/г. В дальнейшем, однако, происходило быстрое выведение активности из опухолевой ткани. При внутривенном и внутривенном введении максимальные удельные активности ^{188}Re -НА в опухоли составили 2,85%/г и 3,14%/г соответственно. На протяжении всего исследования концентрация препарата при внутривенном и внутривенном путях введения была существенно ниже, чем при внутриопухолевой инъекции. Концентрация $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ в опухолевой ткани были также ниже, чем ^{188}Re -НА. Повышенное содержание ^{188}Re -НА наблюдали в щитовидной железе и желудке. Таким образом, высокую удельную активность в опухоли отмечали лишь при интратуморальном введении ^{188}Re -НА. Способ введения ^{188}Re -НА не оказывал значительного влияния на уровни активностей во внутренних органах и тканях, но влиял на скорость накопления активности в них.

Ключевые слова: наночастицы, наноалмазы, ^{188}Re , радиофармпрепарат, карцинома Эрлиха, радионуклидная терапия, терапия рака, внутриопухолевое введение, внутривенное введение, внутривенное введение.

Введение

В связи с неуклонным ростом онкологической заболеваемости своевременная и эффективная терапия опухолей продолжает оставаться наиболее актуальной проблемой современной клинической медицины. Перспективным направлением в этой области является применение наноалмазных частиц для таргетной доставки противоопухолевых препаратов или радионуклидов с терапевтической целью. Значительный интерес к наноалмазам (НА) связан с их низкой токсичностью, высокой химической стабильностью, высоким сродством к биомолекулам и простотой функционализации их поверхности [1]. Благодаря этому наноалмазы широко применяются для разработки систем доставки лекарственных препаратов и радионуклидов непосредственно в опухолевую ткань.

Наноалмазы сочетают в себе как свойства алмаза (высокая химическая стабильность, твердость, прочность, жесткость), так и наночастиц (малый размер, большая площадь поверхности и высокая сорбционная ёмкость) [2]. Благодаря этому наноалмазы способны связываться с широким спектром лекарственных соединений и биологически активных молекул. Кроме того, наноалмазы обладают наименьшей цитотоксичностью из всех углеродсодержащих наномате-

Петриев В.М.* – в.н.с., д.б.н., проф. НИЯУ МИФИ; Тищенко В.К. – с.н.с., к.б.н.; Михайловская А.А. – с.н.с., к.б.н. Коноплянников А.Г. – зав. отд., д.б.н., проф. МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России.

*Контакты: 249036, Калужская обл., Обнинск, ул. Королева, 4, Тел.: (484) 399-71-00; e-mail: petriev@mrrc.obninsk.ru.

риалов [1]. Сочетание этих свойств делает наноалмазы перспективной субстанцией для пролонгированного высвобождения лекарственных препаратов и эффективной терапии широкого спектра заболеваний.

В литературе приводятся данные о возможности конъюгации НА с такими противоопухолевыми препаратами как доксорубин [3, 4], эпирубин [5], даунорубин [6], цисплатин [7], паклитаксел [8], митоксантрон [9], 10-гидроксикамптотecin [10] и др. Применение таких комплексов увеличивает содержание химиотерапевтических препаратов в опухолевых клетках, что позволяет не только преодолеть лекарственную устойчивость опухоли к препаратам, но и избежать системных побочных эффектов. Более того, высвобождение соединений из наноалмазной матрицы происходит постепенно, что позволяет поддерживать терапевтическую концентрацию препарата в течение длительного времени и достигать максимального терапевтического эффекта [8].

Перспективным радионуклидом для создания терапевтических радиофармпрепаратов (РФП) является ^{188}Re . ^{188}Re имеет оптимальные ядерно-физические характеристики для создания «очаговой» терапевтической дозы облучения за счёт бета-излучения ($T_{1/2}=17$ ч, $E_{\beta\text{max}}=2,1$ МэВ, проникающая способность в мягких тканях составляет 10 мм), а также позволяет за счёт гамма-излучения ($E_{\gamma}=155$ кэВ) наблюдать за поведением меченого соединения *in vivo* с помощью визуализирующей аппаратуры. Еще одним достоинством ^{188}Re является его доступность, поскольку его получают из генератора $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$. Все это позволяет готовить РФП в клинических условиях непосредственно перед введением пациенту. Исходя из вышеизложенного, следует признать целесообразным разработку нового РФП на основе наноалмазных частиц и ^{188}Re . Целью настоящей работы является разработка метода получения ^{188}Re -наноалмазов и изучение их поведения в организме лабораторных животных с экспериментальной злокачественной опухолью при разных способах поступления меченого препарата в организм.

Материалы и методы

Суспензия детонационных наноалмазов была получена в Физико-техническом институте им. А.Ф. Иоффе (Санкт-Петербург) по методу, описанному в работе [11]. Средний размер наночастиц, оцениваемый методом динамического рассеяния света, составил 4,5 нм.

Изучение распределения ^{188}Re -НА проводили на беспородных мышах-самцах весом 30 ± 3 г с перевитой карциномой Эрлиха. Карциному Эрлиха перевивали беспородным мышам внутрибрюшинно или подкожно асцитной жидкостью. При внутрибрюшинной перевивке образуется асцит с большим количеством опухолевых клеток. Для получения солидного варианта опухоли Эрлиха перевивали асцитную жидкость, полученную от мышей-доноров на 8-10 сутки роста. Полученную взвесь, содержащую в 0,1 мл $3,5\cdot 10^6$ клеток опухоли, вводили мышам под кожу бедра. Введение ^{188}Re -НА осуществляли на 7 сутки, когда объём опухоли достигал $0,4\text{--}0,6\text{ см}^3$.

Всего было использовано 80 животных. Животные были поделены на четыре группы (по 20 мышей в каждой). На животных первой, второй и третьей групп изучали распределение ^{188}Re -НА после внутриопухолевого, внутрижелудочного и внутривенного введения соответственно. Четвёртая группа животных была контрольной: на этих животных изучали распределение свободного ^{188}Re в виде перрената натрия ($\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$) после внутриопухолевого введения.

Через 5 мин, 1, 3, 24 и 48 ч по 4 животных в каждый срок забивали под наркозом декапитацией, выделяли пробы органов и тканей, помещали их в пластиковые пробирки, взвешивали

на электронных весах «Sartorius» (Германия) и проводили радиометрию с помощью автоматического гамма-счётчика «Wizard» версии 2480 фирмы PerkinElmer/Wallac (Финляндия).

По данным радиометрии рассчитывали содержание ^{188}Re -НА в 1 г массы ткани и на весь орган в процентах от введённого количества. При характеристике количественных величин вычисляли среднее арифметическое (М), стандартную ошибку (m).

Результаты и обсуждение

Результаты накопления активности в опухолевой ткани при различных путях введения ^{188}Re -НА представлены в табл. 1 и 2. Наиболее высокая концентрация активности в опухоли наблюдается при внутриопухолевом введении сразу же после инъекции препарата ($98,5 \pm 24,3\%/г$ или $29,4 \pm 7,35\%/орган$) (табл. 1 и 2). В то же время необходимо отметить, что ^{188}Re -НА достаточно быстро выводятся из опухолевой ткани. Так, уже через 1 ч содержание ^{188}Re -НА снижается до $17,0 \pm 2,10\%/г$, а через 3 ч – до $6,08 \pm 0,41\%/г$. Тем не менее, уровень активности исследуемого РФП в опухоли при внутриопухолевом введении существенно выше, чем при внутривенном и внутрижелудочном путях введения на протяжении всего исследования ($p < 0,001-0,01$).

Таблица 1

Распределение активности в опухоли мышей с карциномой Эрлиха после внутриопухолевого, внутривенного и внутрижелудочного введения ^{188}Re -НА (в %/г от введённого количества)

Наименование органа, ткани	Метод введения	Время после введения препарата				
		5 мин	1 ч	3 ч	1 сут	2 сут
Карцинома Эрлиха	в/о	$98,5 \pm 24,3$	$17,0 \pm 2,10$	$6,08 \pm 0,41$	$2,09 \pm 0,22$	$1,85 \pm 0,19$
	в/ж	$3,14 \pm 0,31$	$2,36 \pm 0,27$	$2,32 \pm 0,03$	$0,11 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,02$
	в/в	$2,85 \pm 0,33$	$2,59 \pm 0,15$	$2,18 \pm 0,22$	$0,24 \pm 0,07$	$0,17 \pm 0,03$

Примечания: в/о – внутриопухолевое введение; в/ж – внутрижелудочное введение; в/в – внутривенное введение.

Таблица 2

Распределение активности в опухоли мышей с карциномой Эрлиха после внутриопухолевого, внутривенного и внутрижелудочного введения ^{188}Re -НА (на весь орган в % от введённого количества)

Наименование органа, ткани	Метод введения	Время после введения препарата				
		5 мин	1 ч	3 ч	1 сут	2 сут
Карцинома Эрлиха	в/о	$29,4 \pm 7,35$	$4,35 \pm 0,60$	$1,95 \pm 0,44$	$0,57 \pm 0,02$	$0,54 \pm 0,09$
	в/ж	$0,25 \pm 0,08$	$0,59 \pm 0,07$	$0,56 \pm 0,13$	$0,066 \pm 0,011$	$0,024 \pm 0,004$
	в/в	$0,21 \pm 0,04$	$0,30 \pm 0,05$	$0,25 \pm 0,04$	$0,030 \pm 0,006$	$0,017 \pm 0,002$

Примечания: в/о – внутриопухолевое введение; в/ж – внутрижелудочное введение; в/в – внутривенное введение.

Содержание перрената рения ($\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$) в ткани опухоли после внутриопухолевого введения представлено в табл. 3. Оно характеризуется достаточно высокими значениями активности в начальные сроки эксперимента и следовыми количествами в поздние сроки. В течение всего исследования концентрация $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ в опухолевой ткани ниже, чем ^{188}Re -НА.

Таблица 3

**Фармакокинетика ^{188}Re -НА и $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ в организме мышей с карциномой Эрлиха
после внутриопухолевого введения препаратов
(%/г от введённого количества)**

	Наименование органа, ткани	Наименование препарата	Время после введения препарата				
			5 мин	1 ч	3 ч	1 сут	2 сут
1	Кровь	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	5,16±0,36 4,36±1,12 p>0,5	4,86±0,79 4,54±0,30 p>0,5	3,28±0,56 3,87±0,33 p>0,25	0,17±0,04 0,09±0,04 p>0,1	0,004±0,001 0,022±0,013 p>0,1
2	Щитовидная железа	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	12,3±2,66 18,07±5,66 p>0,25	251,1±45,2 147,9±22,15 p>0,05	290,7±50,2 158,8±5,09 p<0,05	11,2±4,56 2,46±0,82 p>0,1	0,47±0,13 0,70±0,18 p>0,25
3	Лёгкие	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	2,92±0,24 2,64±0,73 p>0,5	3,68±0,48 2,37±0,29 p>0,05	1,82±0,28 2,69±0,15 p<0,05	0,12±0,03 0,05±0,02 p>0,05	0,003±0,001 0,010±0,007 p>0,25
4	Печень	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	1,86±0,18 1,66±0,39 p>0,5	2,55±0,43 2,08±0,19 p>0,25	1,37±0,24 1,93±0,12 p>0,05	0,10±0,04 0,05±0,02 p>0,25	0,006±0,001 0,009±0,006 p>0,5
5	Почки	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	2,31±0,13 2,02±0,53 p>0,5	3,03±0,44 2,02±0,14 p>0,05	1,60±0,22 1,81±0,17 p>0,25	0,11±0,03 0,04±0,02 p>0,05	0,005±0,001 0,009±0,006 p>0,5
6	Сердце	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	1,20±0,09 0,88±0,22 p>0,1	1,21±0,17 0,92±0,040 p>0,1	0,66±0,12 0,82±0,062 p>0,25	0,04±0,02 0,01±0,01 p>0,1	0,014±0,002 0,003±0,003 p<0,05
7	Селезёнка	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	1,31±0,18 1,07±0,29 p>0,5	1,79±0,10 1,39±0,12 p<0,05	0,96±0,20 1,33±0,08 p>0,1	0,07±0,03 0,04±0,01 p>0,25	0,008±0,001 0,011±0,007 p>0,5
8	Желудок с содержимым	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	7,79±2,04 7,37±3,20 p>0,5	43,1±6,96 45,3±3,13 p>0,5	20,5±3,51 54,2±6,44 p<0,01	2,83±0,80 1,12±0,46 p>0,1	0,12±0,02 0,30±0,14 p>0,1
9	Кишечник	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	1,40±0,17 1,06±0,26 p>0,25	2,13±0,46 2,52±0,55 p>0,5	3,01±0,96 2,41±0,33 p>0,5	0,10±0,01 0,07±0,03 p>0,25	0,006±0,001 0,012±0,004 p>0,1
10	Мышца	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	0,81±0,13 0,48±0,13 p>0,1	0,66±0,12 0,54±0,070 p>0,25	0,33±0,050 0,45±0,055 p>0,1	0,028±0,006 0,010±0,009 p>0,1	0,003±0,001 0,007±0,007 p>0,5
11	Карцинома Эрлиха	^{188}Re -НА $\text{Na } ^{188}\text{ReO}_4$ p	98,5±24,3 78,4±14,3 p>0,5	17,0±2,10 7,66±2,64 p<0,05	6,08±0,41 4,48±0,58 p>0,05	2,09±0,22 0,37±0,18 p<0,001	1,85±0,19 0,39±0,19 p<0,002

Примечания: p – коэффициент распределения Стьюдента.

При внутривенном и внутрижелудочном путях введения максимальные концентрации ^{188}Re -НА в опухоли отмечаются уже через 5 мин после начала эксперимента и составляют $2,85\pm0,33\%/г$ и $3,14\pm0,31\%/г$ соответственно (табл. 1). В дальнейшем уровень активности в опухолевой ткани постепенно снижается. Следует отметить, что между уровнями накопления ^{188}Re -НА при внутривенном и внутрижелудочном введении статистически значимых различий не выявлено.

Поступление наноалмазных частиц в клетки осуществляется в основном путём клатрин-зависимого эндоцитоза [12-14]. Количество НА в опухолевых клетках существенно выше, чем в неопухолевых при тех же условиях [12]. Это может объясняться усилением кровоснабжения опухоли за счёт формирования новых сосудов. Кроме того, не исключается наличие дополнительных путей проникновения в опухолевые клетки, например, с помощью макропиноцитоза [14]. При этом поступление НА в клетки зависит от размера частиц, их формы, наличия функциональных групп на их поверхности, концентрации наночастиц в окружающей среде и времени инкубации [12, 15]. В ряде исследований было продемонстрировано, что разные типы опухоле-

вых клеток обладают неодинаковой чувствительностью к нанодиагностическим частицам, в связи с чем уровни накопления НА в таких клетках будут различаться [12, 16]. В этой связи низкое содержание ^{188}Re -НА в опухоли при внутривенном и внутрижелудочном путях введения, а также быстрое выведение РФП после внутриопухолевой инъекции может быть связано с низкой чувствительностью карциномы Эрлиха к нанодиагностическим частицам.

В крови наибольшая активность наблюдается сразу же после внутривенного введения ^{188}Re -НА ($9,16 \pm 0,59\%$). Максимальная концентрация препарата в крови после внутриопухолевой инъекции составляет $5,16 \pm 0,36\%$ и отмечается также через 5 мин после введения (табл. 4). В более поздние сроки происходит постепенное выведение препарата из крови. При внутрижелудочном введении пиковое значение концентрации ^{188}Re -НА ($5,50 \pm 0,46\%$) наблюдается спустя 1 ч после начала эксперимента, что, вероятно, связано с абсорбцией препарата в ЖКТ и первичным прохождением через печень до попадания в системный кровоток. Статистически значимые различия ($p < 0,001-0,01$) между активностями ^{188}Re -НА в крови выявлены лишь через 5 мин и 2 суток после введения препарата (табл. 4).

Таблица 4

Фармакокинетика ^{188}Re -НА в организме мышей с карциномой Эрлиха после внутриопухолевого, внутривенного и внутрижелудочного введения препарата в %/г от введённого количества)

	Наименование органа, ткани	Метод введения	Время после введения препарата				
			5 мин	1 ч	3 ч	1 сут	2 сут
1	Кровь	в/о	$5,16 \pm 0,36$	$4,86 \pm 0,79$	$3,28 \pm 0,56$	$0,17 \pm 0,04$	$0,004 \pm 0,001$
		в/ж	$3,93 \pm 0,47$	$5,50 \pm 0,46$	$3,09 \pm 0,37$	$0,27 \pm 0,07$	$0,098 \pm 0,018$
		в/в	$9,16 \pm 0,59$	$4,57 \pm 0,21$	$3,52 \pm 0,27$	$0,21 \pm 0,02$	$0,027 \pm 0,005$
2	Щитовидная железа	в/о	$12,3 \pm 2,66$	$251,1 \pm 45,2$	$290,7 \pm 50,2$	$11,2 \pm 4,56$	$0,47 \pm 0,13$
		в/ж	$35,3 \pm 10,8$	$179,6 \pm 65,4$	$160,0 \pm 10,3$	$10,0 \pm 0,91$	$1,19 \pm 0,33$
		в/в	$56,6 \pm 11,4$	$246,1 \pm 67,4$	$268,6 \pm 88,5$	$10,9 \pm 2,03$	$0,51 \pm 0,20$
3	Лёгкие	в/о	$2,92 \pm 0,24$	$3,68 \pm 0,48$	$1,82 \pm 0,28$	$0,12 \pm 0,03$	$0,003 \pm 0,001$
		в/ж	$3,40 \pm 0,55$	$3,40 \pm 0,27$	$1,73 \pm 0,17$	$0,16 \pm 0,03$	$0,056 \pm 0,013$
		в/в	$9,13 \pm 0,70$	$4,13 \pm 0,24$	$2,43 \pm 0,22$	$0,31 \pm 0,05$	$0,12 \pm 0,02$
4	Печень	в/о	$1,86 \pm 0,18$	$2,55 \pm 0,43$	$1,37 \pm 0,24$	$0,10 \pm 0,04$	$0,006 \pm 0,001$
		в/ж	$2,38 \pm 0,49$	$2,15 \pm 0,30$	$1,23 \pm 0,16$	$0,15 \pm 0,03$	$0,061 \pm 0,011$
		в/в	$4,71 \pm 0,33$	$1,91 \pm 0,34$	$1,90 \pm 0,19$	$0,20 \pm 0,03$	$0,15 \pm 0,02$
5	Почки	в/о	$2,31 \pm 0,13$	$3,03 \pm 0,44$	$1,60 \pm 0,22$	$0,11 \pm 0,03$	$0,005 \pm 0,001$
		в/ж	$2,19 \pm 0,36$	$2,32 \pm 0,25$	$1,56 \pm 0,17$	$0,07 \pm 0,02$	$0,083 \pm 0,023$
		в/в	$4,97 \pm 0,48$	$2,16 \pm 0,15$	$1,62 \pm 0,17$	$0,08 \pm 0,01$	$0,038 \pm 0,006$
6	Сердце	в/о	$1,20 \pm 0,09$	$1,21 \pm 0,17$	$0,66 \pm 0,12$	$0,044 \pm 0,016$	$0,014 \pm 0,002$
		в/ж	$1,20 \pm 0,25$	$1,37 \pm 0,27$	$0,85 \pm 0,17$	$0,034 \pm 0,005$	$0,024 \pm 0,024$
		в/в	$2,38 \pm 0,36$	$1,09 \pm 0,13$	$0,62 \pm 0,06$	$0,020 \pm 0,004$	$0,048 \pm 0,012$
7	Селезёнка	в/о	$1,31 \pm 0,18$	$1,79 \pm 0,10$	$0,96 \pm 0,20$	$0,07 \pm 0,03$	$0,008 \pm 0,001$
		в/ж	$1,33 \pm 0,28$	$1,61 \pm 0,14$	$0,98 \pm 0,11$	$0,08 \pm 0,02$	$0,039 \pm 0,009$
		в/в	$3,89 \pm 0,44$	$2,64 \pm 0,04$	$1,98 \pm 0,11$	$0,55 \pm 0,06$	$0,370 \pm 0,030$
8	Желудок с содержимым	в/о	$7,79 \pm 2,04$	$43,1 \pm 6,96$	$20,5 \pm 3,51$	$2,83 \pm 0,80$	$0,12 \pm 0,02$
		в/ж	$174,9 \pm 16,9$	$75,9 \pm 8,69$	$23,7 \pm 2,63$	$2,08 \pm 0,52$	$0,09 \pm 0,03$
		в/в	$16,5 \pm 3,21$	$55,4 \pm 7,25$	$52,1 \pm 5,82$	$1,44 \pm 0,25$	$0,10 \pm 0,02$
9	Кишечник	в/о	$1,40 \pm 0,17$	$2,13 \pm 0,46$	$3,01 \pm 0,96$	$0,10 \pm 0,01$	$0,006 \pm 0,001$
		в/ж	$1,18 \pm 0,18$	$1,86 \pm 0,38$	$1,51 \pm 0,13$	$0,16 \pm 0,03$	$0,067 \pm 0,014$
		в/в	$2,33 \pm 0,29$	$3,20 \pm 0,72$	$1,44 \pm 0,21$	$0,16 \pm 0,01$	$0,058 \pm 0,011$
10	Мышца	в/о	$0,81 \pm 0,13$	$0,66 \pm 0,12$	$0,33 \pm 0,05$	$0,028 \pm 0,006$	$0,003 \pm 0,001$
		в/ж	$0,71 \pm 0,20$	$0,72 \pm 0,07$	$0,36 \pm 0,05$	$0,037 \pm 0,011$	$0,056 \pm 0,012$
		в/в	$1,36 \pm 0,13$	$0,73 \pm 0,05$	$0,54 \pm 0,10$	$0,040 \pm 0,005$	$0,033 \pm 0,008$
11	Кость бедра	в/о	$0,39 \pm 0,07$	$0,53 \pm 0,05$	$0,26 \pm 0,02$	$0,43 \pm 0,06$	$0,37 \pm 0,04$
		в/ж	$1,75 \pm 0,16$	$0,86 \pm 0,08$	$0,04 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,04$	$0,19 \pm 0,04$
		в/в	$2,58 \pm 0,26$	$1,50 \pm 0,05$	$1,03 \pm 0,09$	$0,17 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,01$

Примечания: в/о – внутриопухолевое введение; в/ж – внутрижелудочное введение; в/в – внутривенное введение.

Обращают на себя внимание высокие уровни накопления активности в щитовидной железе (табл. 4). Способ введения препарата не оказывает существенного влияния на распределение активности в щитовидной железе. При внутриопухолевом введении концентрация ^{188}Re -НА достигает значений $251,1 \pm 45,2\%/г$ и $290,7 \pm 50,2\%/г$ в сроки 1 ч и 3 ч соответственно. При внутривенном введении максимальное содержание РФП составляет $246,1 \pm 67,4\%/г$ и $268,6 \pm 88,5\%/г$ через 1 ч и 3 ч соответственно. Чуть ниже концентрация препарата при внутрижелудочном способе введения: не более $179,6 \pm 65,4\%/г$ (табл. 4). Стоит отметить, что, несмотря на значительное содержание ^{188}Re -НА в щитовидной железе, препарат практически полностью выводится из неё в течение двух суток.

Во многих работах [17-20] сообщается о высоком содержании наноалмазов в печени, лёгких и селезёнке у мышей после внутривенного или интратрахеального введения. При интратрахеальном введении НА накапливаются также в костной ткани и сердце [18]. Высокий уровень НА в этих органах объясняется активацией ретикулоэндотелиальной системы (РЭС), которая представлена купферовскими клетками печени, макрофагами селезёнки и альвеолярными макрофагами [17, 19]. Известно, что наночастицы, в том числе и алмазные, имеют тенденцию к агрегации с образованием более крупных частиц (до 100-200 нм), которые распознаются и захватываются клетками РЭС, обеспечивая значительное содержание НА в печени, селезёнке и лёгких. Высокий уровень НА в почках объясняется их выведением с мочой [19]. В данной работе показано, что концентрация ^{188}Re -НА во внутренних органах (лёгких, печени, селезёнке, почках) также достаточно высока. Наибольший уровень активности наблюдается после внутривенного введения ^{188}Re -НА. При этом повышенное накопление препарата при вышеупомянутом пути введения наблюдается на протяжении всего исследования, а максимальная активность – сразу же после введения РФП (табл. 4). Так, активность в лёгких, почках, печени и селезёнке достигает значений $9,13 \pm 0,70\%/г$, $4,97 \pm 0,48\%/г$, $4,71 \pm 0,33\%/г$ и $3,89 \pm 0,44\%/г$ соответственно. При внутриопухолевом и внутрижелудочном путях введения наибольшие значения концентрации ^{188}Re -НА отмечаются в срок 1 ч. Это связано с тем, что при внутривенном пути введения ^{188}Re -НА попадает непосредственно в кровоток, а при внутрижелудочном и внутриопухолевом введениях препарат попадает в кровоток не сразу, а через некоторое время после прохождения тканевых барьеров. Статистически значимые различия при данных путях введения отмечены лишь в поздние сроки (через 2 суток).

В сердце активность ^{188}Re -НА невелика независимо от метода введения. Пиковая концентрация РФП в сердце ($2,38 \pm 0,36\%/г$) отмечается уже через 5 мин после его внутривенного введения (табл. 4). Однако уже через 1 ч его концентрация снижается до $1,09 \pm 0,13\%/г$, а через 3 ч содержание препарата в сердце не превышает $1\%/г$ при различных путях введения. Существенных различий между содержанием ^{188}Re -НА в сердце после внутриопухолевого и внутрижелудочного введений не установлено ($p > 0,25-0,5$). Это является несомненным преимуществом данного РФП, поскольку невысокий уровень активности в сердце снижает лучевую нагрузку на сердечную мышцу.

Анализ фармакокинетических характеристик ^{188}Re -НА в ЖКТ продемонстрировал, что максимальная концентрация РФП отмечается при внутрижелудочном введении (табл. 4). Первоначальная активность ^{188}Re -НА в желудке составила $174,9 \pm 16,9\%/г$, однако уже через 1 ч она снизилась до $75,9 \pm 8,69\%/г$, а через 2 суток в желудке регистрировались лишь следовые количества препарата ($0,09 \pm 0,03\%/г$). При внутриопухолевом и внутривенном методах введения пи-

ковые концентрации препарата в желудке отмечают через 1 ч ($43,1 \pm 6,96\%/г$ и $55,4 \pm 7,25\%/г$ соответственно). В дальнейшем происходит постепенное выведение активности из желудка, а концентрации препарата выравниваются.

Метод введения не оказывает значительного влияния на уровень активности $^{188}\text{Re-NA}$ в кишечнике. Так, при внутривенном введении наибольшая концентрация РФП в кишечнике составляет $3,20 \pm 0,72\%/г$, при внутриопухолевом – $3,01 \pm 0,96\%/г$, а при внутрижелудочном не превышает $1,86 \pm 0,38\%/г$ (табл. 4). Статистически значимые различия ($p < 0,01-0,05$) отмечаются преимущественно в начальные и конечные сроки эксперимента.

Невысокий уровень активности наблюдается в мышечной ткани и бедренной кости. В мышце максимальное содержание $^{188}\text{Re-NA}$ отмечается в срок 5 мин и составляет $1,36 \pm 0,13\%/г$ при внутривенном способе введения. В остальные сроки концентрации препарата в мышце практически одинаковы ($p > 0,1-0,5$) независимо от метода введения. В кости бедра в первые 3 ч активность $^{188}\text{Re-NA}$ выше при внутривенном введении, а в поздние сроки – при внутриопухолевом введении ($p < 0,001-0,05$).

Заключение

Необходимо отметить, что максимальный уровень активности в опухолевой ткани определяется при внутриопухолевой инъекции $^{188}\text{Re-NA}$. Кроме того, содержание $^{188}\text{Re-NA}$ в опухоли выше, чем $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$. При внутривенном и внутрижелудочном введении $^{188}\text{Re-NA}$ накапливается в опухоли в незначительных количествах. При внутривенной инъекции препарат быстро накапливается во внутренних органах, обеспечивая максимальную удельную активность почти сразу после введения. При внутриопухолевом и внутрижелудочном путях введения $^{188}\text{Re-NA}$ большая часть активности попадает в кровь постепенно, поэтому в этих случаях пиковые значения концентраций активности во внутренних органах определяются лишь спустя 1-3 ч после введения. Повышенное содержание $^{188}\text{Re-NA}$ отмечено в щитовидной железе и желудке независимо от пути введения. Таким образом, способ введения $^{188}\text{Re-NA}$ не оказывает значительного влияния на уровни активностей во внутренних органах и тканях, за исключением опухоли, но влияет на скорость накопления активности в них.

Литература

1. **Schrand A.M., Huang H., Carlson C., Schlager J., Osawa E., Hussain S., Dai L.** Are diamond nanoparticles cytotoxic? //J. Phys. Chem. B. 2007. V. 111, N 1. P. 2-7.
2. **Mochalin V., Shenderova O., Ho D., Gogotsi Y.** The properties and applications of nanodiamonds //Nat. Nanotechnol. 2012. V. 7, N 1. P. 11-23.
3. **Huang H., Pierstorff E., Osawa E., Ho D.** Active nanodiamond hydrogels for chemotherapeutic delivery //Nano Lett. 2007. V. 7, N 11. P. 3305-3314.
4. **Xiao J., Duan X., Yin Q., Zhang Z., Yu H., Li Y.** Nanodiamonds-mediated doxorubicin nuclear delivery to inhibit lung metastasis of breast cancer //Biomaterials. 2013. V. 34, N 37. P. 9648-9656.
5. **Wang X., Low X.C., Hou W., Abdullah L.N., Toh T.B., Mohd Abdul Rashid M., Ho D., Chow E.K.** Epirubicin-adsorbed nanodiamonds kill chemoresistant hepatic cancer stem cells //ACS Nano. 2014. V. 8, N 12. P. 12151-12166.
6. **Man H.B., Kim H., Kim H.J., Robinson E., Liu W.K., Chow E.K., Ho D.** Synthesis of nanodiamond-daunorubicin conjugates to overcome multidrug chemoresistance in leukemia //Nanomed. 2014. V. 10, N 2. P. 359-369.
7. **Guan B., Zou F., Zhi J.** Nanodiamond as the pH-responsive vehicle for an anticancer drug //Small. 2010. V. 6, N 14. P. 1514-1519.
8. **Liu K.K., Zheng W.W., Wang C.C., Chiu Y.C., Cheng C.L., Lo Y.S., Chen C., Chao J.I.** Covalent linkage of nanodiamond-paclitaxel for drug delivery and cancer therapy //Nanotechnol. 2010. V. 21, N 31. P. 315106.
9. **Toh T.B., Lee D.K., Hou W., Abdullah L.N., Nguyen J., Ho D., Chow E.K.** Nanodiamond-mitoxantrone complexes enhance drug retention in chemoresistant breast cancer cells //Mol. Pharmacol. 2014. V. 11, N 8. P. 2683-2691.
10. **Li J., Zhu Y., Ki W., Zhang X., Peng Y., Huang Q.** Nanodiamonds as intracellular transporters of chemotherapeutic drug //Biomaterials. 2010. V. 31, N 32. P. 8410-8418.
11. **Aleksenskiy A.E., Eydelman E.D., Vul A.Ya.** Deagglomeration of detonation nanodiamonds //Nanosci. Nanotechnol. Lett. 2011. V. 3, N 1. P. 68-74.
12. **Perevedentseva E., Hong S.F., Huang K.J., Chiang L.T., Lee C.Y., Tseng Y.T., Cheng C.L.** Nanodiamond internalization in cells and the cell uptake mechanism //J. Nanopart. Res. 2013. V. 15. P. 1834-1845.
13. **Cuche A., Sonnefraud Y., Faklaris O., Garrot D., Boudou J.P., Sauvage T., Roch J.F., Treussart F., Huant S.** Diamond nanoparticles as photoluminescent nanoprobe for biology and near-field optics //J. Lumin. 2009. V. 129, N 12. P. 1475-1477.
14. **Liu K.K., Wang C.C., Cheng C.L., Chao J.I.** Endocytic carboxylated nanodiamond for the labeling and tracking of cell division and differentiation in cancer and stem cells //Biomaterials. 2009. V. 30, N 26. P. 4249-4259.
15. **Kaur R., Badea I.** Nanodiamonds as novel nanomaterials for biomedical applications: drug delivery and imaging systems //Int. J. Nanomed. 2013. V. 8. P. 203-220.
16. **Keremidarska M., Ganeva A., Mitev D., Hikov T., Presker R., Pramatarova L., Krasteva N.** Comparative study of cytotoxicity of detonation nanodiamond particles with an osteosarcoma cell line and primary mesenchymal stem cells //Biotechnol. Equip. 2014. V. 28, N 4. P. 733-739.
17. **Yuan Y., Chen Y.W., Liu J.H., Wang H., Liu Y.** Biodistribution and fate of nanodiamonds *in vivo* //Diam. Relat. Mater. 2009. V. 18, N 1. P. 95-100.
18. **Zhang X.Y., Yin J.L., Kang C., Li J., Zhu Y., Li W., Huang Q., Zhu Z.** Biodistribution and toxicity of nanodiamonds in mice after intratracheal instillation //Toxicol. Lett. 2010. V. 198, N 2. P. 237-243.

19. Wei Q., Zhan L., Juanjuan B., Jing W., Jianjun W., Taoli S., Yian G., Wangsuo W. Biodistribution of co-exposure to multi-walled carbon nanotubes and nanodiamonds in mice // *Nanoscale Res. Lett.* 2012. V. 7, N 1. P. 473-481.
20. Rojas S., Gispert J.D., Martin R., Abad S., Menchón C., Pareto D., Victor V.M., Alvaro M., Garcia H., Herance J.R. Biodistribution of amino-functionalized diamond nanoparticles. *In vivo* studies based on ^{18}F radionuclide emission // *ACS Nano*. 2011. V. 5, N 7. P. 5552-5559.

Pharmacokinetics of ^{188}Re -nanodiamonds complex in mice bearing experimental Ehrlich carcinoma

Petrev V.M.^{1,2}, Tishchenko V.K.¹, Mikhailovskaya A.A.¹, Konoplyannikov A.G.¹

¹ A. Tsyb MRRC, Obninsk;

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

Targeted radionuclide therapy of tumors is one of the most active areas of research in precision cancer treatment. Nanodiamonds (NDs) have attracted enhanced attention as potential radionuclide carriers for targeting of cancer. The authors present results of the study of pharmacokinetic properties of NDs labeled with ^{188}Re (^{188}Re -NDs) according to a route of the drug administration. Experimental research was carried out on mice with the solid form of Ehrlich tumor, the labeled NDs were administered intratumorally, intravenously and intragastrically. Pharmacokinetic properties of carrier-free sodium perrhenate ($\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$) after intratumoral administration served as control. Obtained data demonstrated that maximum specific radioactivity, 98.5%/g in the tumor, was after intratumoral administration of ^{188}Re -NDs, and then it was cleared from the tumor very rapidly. The maximum of specific radioactivity in the tumor following intravenous and intragastrical administration of the ^{188}Re -NDs complex were 2.85%/g and 3.14%/g respectively. Concentration of carrier-free $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ in the tumor was considerably lower as compared with the concentration of ^{188}Re -ND complex. High level of the ^{188}Re -ND complex was detected in the thyroid and the stomach. Results of the study show that the highest level of radioactivity in the tumor was detected after intratumoral administration of the $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ -ND complex. A route of administration of the $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ -NDs complex did not effect considerably on the level of radioactivity in internal organs and tissues, however, the rate of accumulation of radioactivity in these organs and tissues depended on the route of administration.

Key words: nanoparticles, nanodiamonds, ^{188}Re , radiopharmaceutical, Ehrlich carcinoma, radionuclide therapy, cancer therapy, intratumoral injection, intravenous injection, intragastric injection.

References

1. Schrand A.M., Huang H., Carlson C., Schlager J., Osawa E., Hussain S., Dai L. Are diamond nanoparticles cytotoxic? *J. Phys. Chem. B*, 2007, vol. 111, no. 1, pp. 2-7.
2. Mochalin V., Shenderova O., Ho D., Gogotsi Y. The properties and applications of nanodiamonds. *Nat. Nanotechnol.*, 2012, vol. 7, no. 1, pp. 11-23.
3. Huang H., Pierstorff E., Osawa E., Ho D. Active nanodiamond hydrogels for chemotherapeutic delivery. *Nano Lett.*, 2007, vol. 7, no. 11, pp. 3305-3314.
4. Xiao J., Duan X., Yin Q., Zhang Z., Yu H., Li Y. Nanodiamonds-mediated doxorubicin nuclear delivery to inhibit lung metastasis of breast cancer. *Biomaterials*, 2013, vol. 34, no. 37, pp. 9648-9656.
5. Wang X., Low X.C., Hou W., Abdullah L.N., Toh T.B., Mohd Abdul Rashid M., Ho D., Chow E.K. Epirubicin-adsorbed nanodiamonds kill chemoresistant hepatic cancer stem cells. *ACSociety Nano*, 2014, vol. 8, no. 12, pp. 12151-12166.

Petrev V.M.* – Lead. Researcher, D. Sc., Biol., Prof. of MEPhI; Tishchenko V.K. – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; Mikhailovskaya A.A. – Senior Researcher; C. Sc., Biol.; Konoplyannikov A.G. – Head of Dep., D. Sc., Biol., Prof. A. Tsyb MRRC.

*Contacts: 4 Korolyov str., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249036. Tel.: (484) 399-71-00; e-mail: petrev@mrrc.obninsk.ru.

6. **Man H.B., Kim H., Kim H.J., Robinson E., Liu W.K., Chow E.K., Ho D.** Synthesis of nanodiamond-daunorubicin conjugates to overcome multidrug chemoresistance in leukemia. *Nanomed.*, 2014, vol. 10, no. 2, pp. 359-369.
7. **Guan B., Zou F., Zhi J.** Nanodiamond as the pH-responsive vehicle for an anticancer drug. *Small*, 2010, vol. 6, no. 14, pp. 1514-1519.
8. **Liu K.K., Zheng W.W., Wang C.C., Chiu Y.C., Cheng C.L., Lo Y.S., Chen C., Chao J.I.** Covalent linkage of nanodiamond-paclitaxel for drug delivery and cancer therapy. *Nanotechnol.*, 2010, vol. 21, no. 31, pp. 315106.
9. **Toh T.B., Lee D.K., Hou W., Abdullah L.N., Nguyen J., Ho D., Chow E.K.** Nanodiamond-mitoxantrone complexes enhance drug retention in chemoresistant breast cancer cells. *Mol. Pharmacol.*, 2014, vol. 11, no. 8, pp. 2683-2691.
10. **Li J., Zhu Y., Ki W., Zhang X., Peng Y., Huang Q.** Nanodiamonds as intracellular transporters of chemotherapeutic drug. *Biomaterials*, 2010, vol. 31, no. 32, pp. 8410-8418.
11. **Aleksenskiy A.E., Eydelman E.D., Vul A.Ya.** Deagglomeration of detonation nanodiamonds. *Nanosci. Nanotechnol. Lett.*, 2011, vol. 3, no. 1, pp. 68-74.
12. **Perevedentseva E., Hong S.F., Huang K.J., Chiang L.T., Lee C.Y., Tseng Y.T., Cheng C.L.** Nanodiamond internalization in cells and the cell uptake mechanism. *J. Nanopart. Res.*, 2013, vol. 15, pp. 1834-1845.
13. **Cuche A., Sonnefraud Y., Faklaris O., Garrot D., Boudou J.P., Sauvage T., Roch J.F., Treussart F., Huant S.** Diamond nanoparticles as photoluminescent nanoprobe for biology and near-field optics. *J. Lumin.*, 2009, vol. 129, no. 12, pp. 1475-1477.
14. **Liu K.K., Wang C.C., Cheng C.L., Chao J.I.** Endocytic carboxylated nanodiamond for the labeling and tracking of cell division and differentiation in cancer and stem cells. *Biomaterials*, 2009, vol. 30, no. 26, pp. 4249-4259.
15. **Kaur R., Badea I.** Nanodiamonds as novel nanomaterials for biomedical applications: drug delivery and imaging systems. *Int. J. Nanomed.*, 2013, vol. 8, pp. 203-220.
16. **Keremidarska M., Ganeva A., Mitev D., Hikov T., Presker R., Pramatarova L., Krasteva N.** Comparative study of cytotoxicity of detonation nanodiamond particles with an osteosarcoma cell line and primary mesenchymal stem cells. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, 2014, vol. 28, no. 4, pp. 733-739.
17. **Yuan Y., Chen Y.W., Liu J.H., Wang H., Liu Y.** Biodistribution and fate of nanodiamonds in vivo. *Diam. Relat. Mater.*, 2009, vol. 18, no. 1, pp. 95-100.
18. **Zhang X.Y., Yin J.L., Kang C., Li J., Zhu Y., Li W., Huang Q., Zhu Z.** Biodistribution and toxicity of nanodiamonds in mice after intratracheal instillation. *Toxicol. Lett.*, 2010, vol. 198, no. 2, pp. 237-243.
19. **Wei Q., Zhan L., Juanjuan B., Jing W., Jianjun W., Taoli S., Yian G., Wangsuo W.** Biodistribution of co-exposure to multi-walled carbon nanotubes and nanodiamonds in mice. *Nanoscale Res. Lett.*, 2012, vol. 7, no. 1, pp. 473-481.
20. **Rojas S., Gispert J.D., Martin R., Abad S., Menchón C., Pareto D., Victor V.M., Alvaro M., Garcia H., Herance J.R.** Biodistribution of amino-functionalized diamond nanoparticles. In vivo studies based on ^{18}F radionuclide emission. *ACS Nano*, 2011, vol. 5, no. 7, pp. 5552-5559.