

ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ ТАРГЕТНЫХ РАДИОНУКЛИДНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЭКСПРЕССИИ HER2 В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ

Р. Н. Варвашеня¹, А. С. Фоминых², Г. Е. Янович¹, А. А. Прач²

Научный руководитель – д.фарм.н., заведующий кафедрой фармацевтического анализа М. В. Белоусов

¹Сибирский государственный медицинский университет
Томск, Россия

²Томский политехнический университет
Томск, Россия
mr.varvashenya@mail.ru

Введение. Пациенты с опухолями с высокой гиперэкспрессией HER2 могут успешно лечиться анти-HER2-моноклональными антителами – трастузумабом и пертузумабом. Эти терапевтические средства обычно используются для лечения рака молочной железы и гастроэзофагеальной карциномы [1].

Молекулярная визуализация с использованием таргетной молекулы на основе ^{99m}Tc и каркасного белка DARPIn G3 является очень многообещающим подходом, учитывая низкую цену и доступность генераторов ^{99m}Tc, а также широкое использование камер ОФЭКТ и ОФЕКТ/КТ.

Цель. Исследование новых таргетных агентов на основе каркасного анти-HER2-белка DARPIn и ^{99m}Tc для применения в молекулярной диагностике онкологических заболеваний, для которых характерно наличие гиперэкспрессии онкомаркера – HER2.

Материалы и методы. Для оценки влияния различных хелаторов на биораспределение ^{99m}Tc-меченых DARPins, нами были исследованы варианты, содержащие хелаторы Глу-Глу-Глу-Цис, (G3-E₃C), Гли-Гли-Гли-Цис, (G3-G₃C), Гли-Гли-Гли-Сер-Цис, соединенным с С-концом DARPIn G3 через -(Гли-Гли-Гли-Сер)-линкер (G3-(G₃S)₃C).

Для проведения исследований *in vitro* использовали клеточные линии раковых клеток человека с различным уровнем экспрессии HER2/neu: SK-BR-3 > SKOV-3 > PC-3.

Так же были проведены исследования *in vivo* по оценки биораспределения (CD1) и таргетной специфичности (Nu/j) спустя 4 часа после инъекции исследуемого радиокомплекса. В качестве сравнения использовали экспериментальный препарат, прошедший первую стадию клинических исследований (HE)₃-G3 [2].

Для определения значимых различий (p < 0,05) использовали непарный двусторонний

t-тест или ANOVA анализ апостериорный с поправкой Бонферрони.

Результаты. Изучение специфичности *in vitro* всех вариантов показало, что все варианты обладают высоким уровнем специфичности и пропорционально уровню экспрессии HER2 в клетках.

Интернализация всех вариантов DARPins в SKOV-3 происходила достаточно медленно, что говорит об удерживаемом характере метки.

Оценка аффинности методом насыщения показала, что все варианты высокоаффинные к целевым рецепторам.

Вариант [^{99m}Tc]Tc-G3-E₃C был исключен из дальнейших оценок *in vivo*, так как показал неблагоприятно высокое поглощение печенью у мышей линии CD1.

Поглощение всех ^{99m}Tc-меченых DARPins в ксенотрансплантатах SKOV-3 у мышей линии Nu/j было значимо (p < 0,005) выше, чем в ксенотрансплантатах PC-3.

Заключение. Основываясь на результатах исследования, можно заключить, что таргетные агенты на основе каркасного белка DARPIn G3, меченного ^{99m}Tc в экспериментах *in vitro* продемонстрировали высокоаффинное и специфическое связывание с раковыми клетками человека с высокой HER2-экспрессией, специфическое накопление в HER2-экспрессирующих ксенотрансплантатах и благоприятное распределение в органах и тканях лабораторных животных.

В сравнении с клинически апробированным вариантом [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3 новые конструкции приближаются к нему по основным характеристикам и к тому же имеют существенно ниже поглощение в почках, что делает их перспективными не только для радионуклидной диагностики, но и таргетной терапии.

Список литературы

1. Giordano S.H., Temin S., Chandarlapaty S. et al. Systemic Therapy for Patients with Advanced Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Breast Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update. // J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. – 2018. – № 36. – P. 2736–2740. – DOI: 10.1200/JCO.2018.79.2697.
2. Bragina O., Chernov V., Schulga A. et al. Phase I Trial of $^{99m}\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$, a DARPIn-Based Probe for Imaging of HER2 Expression in Breast Cancer. // J Nucl Med. – 2022. – 63 (4). – 528–535. – DOI: 10.2967/jnumed.121.262542.

РАЗРАБОТКА ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГИДРОКСИЛЬНЫХ РАДИКАЛОВ С ПОМОЩЬЮ ТЕРЕФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

П. Н. Галяпина, А. В. Еркович

Научный руководитель – ассистент ОХИ ИШПР А. В. Еркович

Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, проспект Ленина, 30
polyapinka@gmail.com

Гидроксильный радикал ($\text{OH}^\bullet$) – одна из активных форм кислорода, которая является наиболее реакционноспособной и токсичной [1]. В организме радикал образуется по реакции Фентона с участием ионов двухвалентного железа и вступает в реакцию с различными органическими соединениями практически со скоростью диффузии. Избыток $\text{OH}^\bullet$ является одной из причин окислительного стресса, приводящего к поражению органов, тканей и клеток, развитию различных патогенных, сердечно-сосудистых заболеваний. Сам гидроксильный радикал вызывает повреждение ДНК, различных белков, липидов и других клеточных структур [2]. В связи с этим существует необходимость определять содержание гидроксильного радикала в биологических объектах. Однако существуют трудности из-за кратковременного существования радикала и высокой его реакционной способности.

Среди множества способов определения $\text{OH}^\bullet$ одним из наиболее перспективных является флуориметрический метод. Он основан на флуоресценции исследуемого соединения при облучении его монохроматическим излучением и позволяет определить концентрацию исследуемого соединения по интенсивности флуоресценции. Этот способ достаточно чувствителен к микро- и нанокolicествам исследуемого вещества, а также прост в применении [3].

В данной работе для флуориметрического определения $\text{OH}^\bullet$ использовали натриевую соль терефталевой кислоты. После взаимодействия

данного вещества с гидроксильными радикалами образуется гидрокситерефталат натрия, обладающий высокой степенью флуоресценции, в то время как исходные компоненты являются нефлуоресцирующими веществами.

Генерацию гидроксильных радикалов проводили по реакции Фентона между ионами двухвалентного железа и пероксидом водорода при pH 6,86. Согласно исследованию кинетики реакции, аналитический сигнал необходимо регистрировать через 1 минуту после внесения в систему ионов двухвалентного железа. Как показали контрольные эксперименты, ни один из компонентов реакции по отдельности не оказывает мешающего влияния на аналитический сигнал.

В ходе работы были установлены длины волн возбуждения (320 нм) и испускания (410 нм) гидрокситерефталата натрия с интенсивностью сигнала 0,043, что наглядно показано на рисунке 1. Данный спектр был получен при концентрации гидроксильных радикалов 10^{-5} моль/л.

Длина волны возбуждения передает достаточную энергию исходному веществу для перехода электронов с несвязывающей орбитали на разрыхляющую орбиталь. При длине волны испускания происходит потеря избытка энергии.

Полученные данные говорят о возможности использования флуориметрического метода для регистрации гидроксильных радикалов с помощью терефталевой кислоты. У данного метода