



УДК 621.039.85:615.84:616-006:66.097.5

© 2011

В. Е. Орел, М. О. Ніколов, І. І. Дзятковська, О. Ю. Ярошенко,
А. В. Макаренко, А. Л. Камінська, М. М. Ткаченко, І. Б. Щепотін

**Локалізація і візуалізація наноконкомпозита на основі
 ^{99m}Tc -пірфотех з наночастинками Fe_3O_4 та КСІ при
радіочастотній гіпертермії карциносаркоми Уокер-256
за даними сцинтиграфічних зображень**

(Представлено академіком НАН України Б. О. Мовчаном)

Проведено порівняльне експериментальне дослідження можливості локалізації під впливом постійного магнітного поля й помірної локальної радіочастотної гіпертермії, а також сцинтиграфічної візуалізації злоякісної пухлини карциноми Уокер-256 за допомогою офіційного радіофармацевтичного препарату ^{99m}Tc -пірфотех та наноконкомпозита на основі ^{99m}Tc -пірфотех з Fe_3O_4 та КСІ. Показано, що після введення ^{99m}Tc -пірфотех контрольним тваринам пухлина не візуалізувалася. Після введення наноконкомпозита спостерігалася локалізація та візуалізація препарату в пухлині з дифузійно-нерівномірним розподілом. Накопичення наноконкомпозита в проекції пухлини в порівнянні з контрольними тваринами збільшувалось більш ніж у 2 рази.

Локалізація магнітних наночастинок оксиду заліза постійним магнітним полем та зовнішнім змінним електромагнітним впливом, який ініціює гіпертермію [1] або теплову абляцію [2] в пухлині, продовжує залишатись актуальною областю досліджень, що пов'язано з розробкою технологій діагностики й лікування злоякісних новоутворень [3]. Привабливість цього підходу полягає в ініціації підвищення температури в злоякісних пухлинах з мінімальними побічними ефектами в здорових тканинах.

Основні проблеми, які гальмують широке впровадження в клінічну практику комплексного лікування з використанням наночастинок при радіочастотній гіпертермії, можуть бути зведені до таких: незначна поверхнева селективність наночастинок поміж злоякісними та нормальними клітинами внаслідок труднощів локалізації та візуалізації магнітних наночастинок у пухлині, а також те, що радіочастотна гіпертермія наночастинок у злоякісних пухлинах при температурах вище 41 °С ініціює зниження кровотоку в пухлині [4].

У галузі молекулярної візуалізації злоякісних новоутворень показано, що використання наночастинок забезпечує одночасну візуалізацію флуоресцентних, сцинтиграфічних й

магнітнорезонансних томографічних зображень [5]. Також показано, що при помірній гіпертермії ($<41\text{ }^{\circ}\text{C}$) неоднорідним електромагнітним полем відбувається підвищення кровотоку в пухлині [6].

Виходячи з вищезазначеного, ми ставили за мету експериментально дослідити можливість сцинтиграфічної візуалізації експериментальної злоякісної пухлини карциносаркоми Уокер-256 за допомогою нанокompозита на основі $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -пірфотех з Fe_3O_4 та KCl під впливом постійного магнітного поля та помірної радіочастотної гіпертермії пухлини.

У роботі використовували наночастинки оксиду заліза Fe_3O_4 з KCl діаметром 20–40 нм, отримані із застосуванням технології електронно-променевого випаровування та конденсації у вакуумі неорганічних матеріалів [7].

Нанокompозит $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -пірфотех з Fe_3O_4 та KCl отримували за допомогою сухого механохімічного синтезу 3 мг Fe_3O_4 з KCl та вмісту флакона пірфотех (“Радіопрепарат”, Узбекистан) у мікрівібромліні “ММВЕ-005” (“Гефест”, Росія) [8]. Після механохімічного синтезу Fe_3O_4 з KCl та пірфотеху отриманий нанокompлекс розчиняли у 2 мл розчину елюату $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (“Радіопрепарат”, Узбекистан) з питомою активністю 150 МБк/мл.

Дослідження проведено на шести неінbredних щурах-самках масою (180 ± 15) г розводки віварію Національного інституту раку з перещепленою карциносаркомою Уокер-256. Трансплантацію пухлинних клітин карциносаркоми Уокер-256 здійснювали введенням щуром у праве стегно 30% суспензії клітин в об’ємі 0,4 мл в середовищі 199. За 2–4 хв перед введенням радіофармпрепарату проводили анестезію тварин підшкірним введенням препарату “Каліпсовет плюс” (“Біофарм”, Україна) у дозі 10 мг/кг.

Отриманий колоїдний розчин нанокompозита $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -пірфотех з Fe_3O_4 та KCl (0,3 мл) вводили у хвостову вену щурів на восьму добу після перещеплення пухлини. Середні розміри пухлини становили: $3 \times 2,5 \times 2$ см ($\pm 0,5$ см). Для локалізації нанокompозита в зоні пухлини на 5 хв після введення препарату розташовували постійний магніт з магнітною напруженістю 1990 А/м.

Перед внутрішньовенним введенням нанокompозита проводили локальне електромагнітне опромінення пухлин протягом 15 хв за допомогою прототипу апарата “Магнітерм” (“Радмір”, Україна) при вихідній потужності 100 Вт, 40 МГц. При цьому внутрішньопухлинна температура не перевищувала $37,9\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Сцинтиграфічне дослідження виконували за допомогою томографічної гамма-камери ГКС-301Т (Україна) з низькоенергетичним коліматором високої чутливості. Детектор гамма-камери розташовували на відстані 10 см від тварини. Сцинтиграфічне зображення отримували зі сторони спини тварини. Матриця збору інформації — 256×256 , 16 біт.

Усі дослідження на тваринах здійснювали згідно з нормами, встановленими законом України № 3447-IV “Про захист тварин від жорстокого поводження”, і нормами, прийнятими в Європейській конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей від 20.09.1985 [9].

На рис. 1 для порівняння наведено найбільш типові сцинтиграфічні зображення карциносаркоми Уокер-256 після самостійного введення офіційного $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -пірфотех і нанокompозита. Треба зазначити, що використаний офіційний $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -пірфотех, як і наночастинки Fe_3O_4 з KCl , не мають специфічної тропності до пухлинних клітин. Вони найбільше накопичуються в печінці, нирках та інших органах [10, 11]. За оціночними даними, не більш 15% $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -пірфотех знаходилось у зв’язаному стані з наночастинками Fe_3O_4 з KCl .

Аналізуючи отримані зображення, відзначимо, що пухлина після введення офіційного $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -пірфотех практично не візуалізувалась. Попереднє електромагнітне опромінення

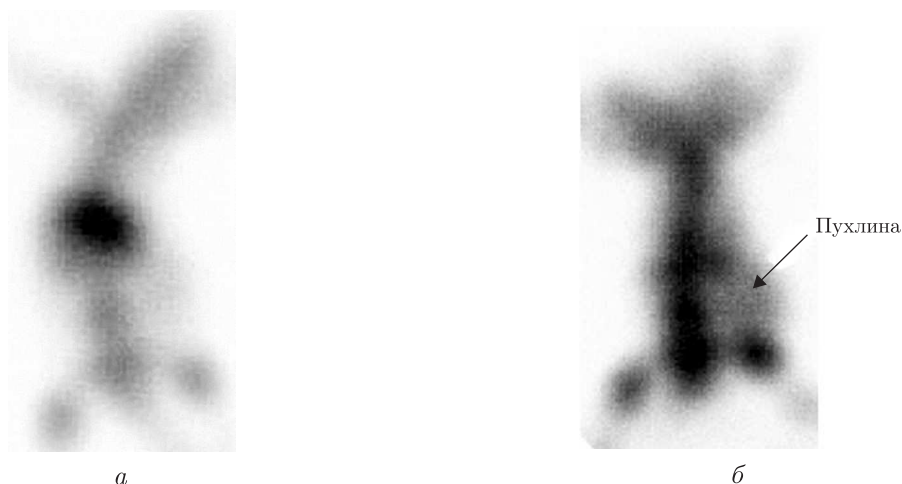


Рис. 1. Сцинтиграфічне зображення тварини з карциносаркомою Уокер-256 через 60 хв після внутрішньовенного введення офіційного препарату ^{99m}Tc -пірфотех (контроль, *a*) та нанокompозита, що включає ^{99m}Tc -пірфотех з наночастинками Fe_3O_4 та KCl (*б*)

пухлини також істотно не підвищувало візуалізацію пухлини з офіційним ^{99m}Tc -пірфотех. При застосуванні нанокompозита спостерігалось збільшення накопичення препарату з дифузійно-нерівномірним розподілом. Дифузійний розподіл нанокompозита в проекції пухлини, на наш погляд, може бути обумовлений характерною гетерогенністю структури пухлинної тканини й дискретним розподілом локалізованих у них наночастинок.

У табл. 1 наведені параметри кінетики ^{99m}Tc -пірфотех та нанокompозита з попереднім електромагнітним опроміненням пухлини. Згідно з отриманими даними, після електромагнітного опромінення пухлин тварин кліренс крові від препарату мав тенденцію до підвищення, що відображає зменшення постійної часу. При цьому накопичення нанокompозита в проекції пухлини в порівнянні з контрольними тваринами збільшувалось більш ніж у 2 рази.

Таким чином, проведене пілотне експериментальне дослідження показало, що застосування нанокompозита на основі ^{99m}Tc -пірфотех з Fe_3O_4 та KCl перспективне для проведення моніторингу накопичення магнітних наночастинок у злоякісних пухлинах після магнітної

Таблиця 1. Параметри кінетики офіційного ^{99m}Tc -пірфотех та нанокompозита на основі ^{99m}Tc -пірфотех з Fe_3O_4 та KCl й попереднім електромагнітним опроміненням пухлини

Параметри кінетики радіофармпрепарату	Офіційний ^{99m}Tc -пірфотех без попереднього електромагнітного опромінення пухлини (контроль)	Нанокompозит ^{99m}Tc -пірфотех з Fe_3O_4 та KCl після попереднього електромагнітного опромінення пухлини
Постійна часу кліренсу крові після введення радіофармпрепарату, хв	$70,3 \pm 10,2$	$56,5 \pm 6,5$
Питома кількість радіофармпрепарату щодо введеної активності в проекції пухлини через 60 хв після введення радіофармпрепарату, %	$0,21 \pm 0,11$	$0,48 \pm 0,07$

локалізації та помірної радіочастотної гіпертермії за даними скінтиграфічного аналізу. Результати проведених експериментів можуть бути в подальшому використані для розробки багатофункціональних магніточутливих нанокомпозитів у медичних нанотехнологіях діагностики та лікування онкологічних хворих.

1. Van der Zee J. Heating the patient: a promising approach // *Ann. Oncol.* – 2002. – **13**. – P. 1173–1184.
2. Diederich C. J. Thermal ablation and high-temperature thermal therapy: overview of technology and clinical implementation // *Int. J. Hyperthermia.* – 2005. – **21**. – P. 745–753.
3. Orel V., Romanov A. The effect of spatially inhomogeneous electromagnetic field and local inductive hyperthermia on nonlinear dynamics of the growth for transplanted animal tumors // *Nonlinear Dynamics / Ed. T. Evans.* – Croatia: INTECH, 2010. – P. 283–308.
4. Song C., Park H., Lee C., Griffin R. Implications of increased tumor blood flow and oxygenation caused by mild temperature hyperthermia in tumor treatment // *Int. J. Hyperthermia.* – P. 761–767.
5. Hwang D. W., Ko H. Y., Lee J. H. et al. A nucleolin-targeted multimodal nanoparticle imaging probe for tracking cancer cells using an aptamer // *J. Nucl. Med.* – 2010. – **51**, No 1. – P. 98–105.
6. Orel V. E., Dzyatkovskaya N. N., Romanov A. V., Kozarenko T. M. The effect of electromagnetic field and local inductive hyperthermia on nonlinear dynamics of the growth of transplanted animal tumors // *Exp. Oncol.* – 2007. – **29**, No 2. – P. 156–158.
7. Мовчан Б. А. Электронно-лучевая нанотехнология и новые материалы в медицине – первые шаги // *Вісн. фармакології і фармації.* – 2007. – № 12. – С. 5–13.
8. Орел В. Е., Шевченко А. Д., Мельник Ю. Г. та ін. Фізико-хімічні характеристики магніточутливого нанокомплексу, отриманого з використанням механомагнетохімічної технології сухого синтезу // *Металлофізика і новішіе технологии.* – 2010. – **32**, № 9. – С. 1157–1167.
9. Резников О. Проблеми етики при проведенні експериментальних медичних і біологічних досліджень на тваринах // *Вісн. НАН України.* – 2001. – № 1. – С. 5–7.
10. Peng X.-H., Qian X., Mao H. et al. Targeted magnetic iron oxide nanoparticles for tumor imaging and therapy // *Int. J. Nanomedicine.* – 2008. – **3**, No 3. – P. 311–321.
11. Кундін В. Ю. Діагностична значущість скінтиграфічних досліджень нирок із ^{99m}Tc -фосфатами у дітей // *Укр. радіол. журн.* – 2004. – **12**. – С. 255–259.

Національний інститут раку, Київ
НТУ України “Київський політехнічний інститут”
Національний медичний університет
ім. О. О. Богомольця, Київ

Надійшло до редакції 11.01.2011

V. E. Orel, N. A. Nikolov, I. I. Dzyatkovska, O. Yu. Iaroshenko,
A. V. Makarenko, A. L. Kaminska, M. N. Tkachenko, I. B. Schepotin

Localization and scintigraphy visualization of nanocomposite based on ^{99m}Tc -phosphate with Fe_3O_4 and KCl nanoparticles under radiofrequency hyperthermia on animal tumor Walker-256

A comparative experimental study of the localization under the influence of constant magnetic fields and local radio frequency moderate hyperthermia for the scintigraphic imaging of malignant Walker-256 carcinosarcoma tumors by conventional ^{99m}Tc -phosphate and nanocomposite based on ^{99m}Tc -phosphate with Fe_3O_4 and KCl is performed. It is shown that, after the introduction of conventional ^{99m}Tc -phosphate to animals from control group, no tumor is visualized. After the introduction of nanocomposite, we observed the accumulation and the visualization of radio-pharmaceuticals in the tumor with diffusion-uneven distribution. Accumulation of nanocomposite in the projection of a tumor as compared with control animals increased by more than 2 times.