Сравнительный анализ клинического использования меченных технецием-99m рекомбинантных таргетных молекул в различных дозировках для радионуклидной диагностики Her2-позитивного рака молочной железы

Брагина О.Д.^{1, 2}, Чернов В.И.¹, Гарбуков Е.Ю.¹, Зельчан Р.В.^{1, 2},
Медведева А.А.¹, Толмачев В.М.^{2, 3}

¹ ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр» Российской академии наук, пер. Кооперативный, 5, Томск, 634009, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», пр-т Ленина, 30, Томск, 634050, Российская Федерация

³ Уппсальский университет, Sengersthuset, Dag Hammarskjölds väg 7, Уппсала, Швеция

Брагина Ольга Дмитриевна, к. м. н., ст. науч. сотр. отделения радионуклидной диагностики Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр» Российской академии наук, науч. сотр. Научно-исследовательского центра «Онкотераностика» ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»;
<http://orcid.org/0000-0001-5281-7758>

Чернов Владимир Иванович, д. м. н., профессор, руководитель отделения радионуклидной диагностики Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр» Российской академии наук;
<http://orcid.org/0000-0002-5524-9546>

Гарбуков Евгений Юрьевич, к. м. н., ст. науч. сотр. отделения общей онкологии Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр» Российской академии наук;
<http://orcid.org/0000-0002-6016-7078>

Зельчан Роман Владимирович, к. м. н., ст. науч. сотр. отделения радионуклидной диагностики Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр» Российской академии наук;
<http://orcid.org/0000-0002-4568-1781>

Медведева Анна Александровна, к. м. н., ст. науч. сотр. отделения радионуклидной диагностики Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр» Российской академии наук;
<http://orcid.org/0000-0002-5840-3625>

Толмачев Владимир Максимилианович, профессор, руководитель лаборатории иммунологии, генетики и патологии Уппсальского университета, руководитель Научно-исследовательского центра «Онкотераностика» ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»;
<http://orcid.org/0000-0002-6122-1734>

Резюме

Актуальность. Главная цель оценки статуса Her2/neu в клинической практике состоит в определении показаний для назначения таргетной терапии. Основными методами выявления статуса Her2/neu являются иммуногистохимический метод и флуоресцентная гибридизация *in situ* (fluorescence in situ hybridization, FISH). Однако, несмотря на распространенность, они имеют ряд существенных недостатков. В течение последних нескольких лет большое распространение приобретает радионуклидная диагностика с использованием нового класса альтернативных каркасных белков, отвечающих всем требованиям для оптимальной доставки радионуклида к опухолевым клеткам.

Цель: проведение сопоставительного анализа эффективности радионуклидной визуализации Her2-позитивного рака молочной железы с применением меченных технецием-99m рекомбинантных молекул в различных дозировках.

Материал и методы. В исследование были включены 22 пациентки с раком молочной железы (T1–4N0–2M0) до проведения системной терапии. У 11 из них определена гиперэкспрессия Her2/neu, у 11 экспрессии маркера выявлено не было. Средний возраст больных составил $50,7 \pm 2,3$ года. Во всех случаях выполняли морфологическое и иммуногистохимическое исследования. При наличии значения Her2/neu 2+ проводили FISH-анализ. Препарат готовили непосредственно перед применением в дозировках 500 и 1000 мкг, после чего медленно внутривенно вводили пациентке. Сцинтиграфические исследования в режиме whole body и однофотонную эмиссионную компьютерную томографию органов грудной клетки выполняли через 2, 4, 6 и 24 ч после введения препарата.

Результаты. Показатели радиохимического выхода и радиохимической чистоты составили $77 \pm 9\%$ и $99 \pm 1\%$ соответственно. Активность препарата непосредственно перед введением для группы с дозировкой 500 мкг составила 416 ± 135 МБк; для группы с дозой 1000 мкг – 349 ± 133 МБк. При анализе

полученных результатов больший захват органами без опухолевого поражения отмечался в почках, печени и легких. Наибольшая абсорбция препарата отмечалась почками в обеих группах исследования ($0,135 \pm 0,042$ и $0,191 \pm 0,047$ мГр соответственно). Эффективная доза для группы с использованием 500 мкг составила $0,009 \pm 0,002$ мГр, 1000 мкг – $0,010 \pm 0,003$ мГр. Лучшее распределение между опухолями с положительным и отрицательным статусами Her2/neu отмечено через 2 ч после введения препарата в группе с применением 500 мкг со средним значением показателя «опухоль/фон» 37 ± 19 для Her2-положительных опухолей и 5 ± 2 для Her2-негативных опухолей ($p < 0,001$).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что исследуемый радиофармацевтический препарат в дозе 500 мкг можно рассматривать в качестве нового дополнительного метода диагностики Her2-положительных опухолей молочной железы.

Ключевые слова: альтернативные каркасные белки; радионуклидная диагностика; Her2/neu; рак молочной железы; таргетная терапия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках гранта Министерства науки и высшего образования, соглашение № 075-15-2019-1925 по теме "Разработка таргетных молекул на основе каркасных белков для диагностики и терапии злокачественных новообразований: тераностический подход".

Для цитирования: Брагина О.Д., Чернов В.И., Гарбуков Е.Ю., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Толмачев В.М. Сравнительный анализ клинического использования меченных технецием-99м рекомбинантных таргетных молекул в различных дозировках для радионуклидной диагностики Her2-положительного рака молочной железы. *Вестник рентгенологии и радиологии*. 2021; 102(2): 89–97. <https://doi.org/10.20862/0042-4676-2021-102-2-89-97>

Для корреспонденции: Брагина Ольга Дмитриевна, E-mail: bragina_od@mail.ru

Статья поступила 12.11.2020

После доработки 02.12.2020

Принята к печати 03.12.2020

Comparative Analysis of the Clinical Use of ^{99m}Tc -Labeled Recombinant Target Molecules in Different Dosages for the Radionuclide Diagnosis of Her2-Positive Breast Cancer

Olga D. Bragina^{1, 2}, Vladimir I. Chernov¹, Evgeniy Yu. Garbukov¹, Roman V. Zelchan^{1, 2}, Anna A. Medvedeva¹, Vladimir M. Tolmachev^{2, 3}

¹ Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, pereulok Kooperativnyy, 5, Tomsk, 634009, Russian Federation

² National Research Tomsk Polytechnic University, prospekt Lenina, 30, Tomsk, 634050, Russian Federation

³ Uppsala University, Segerstedthusset, Dag Hammarskjölds väg 7, Uppsala, Sweden

Olga D. Bragina, Cand. Med. Sc., Senior Researcher, Radionuclide Diagnostics Department, Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Researcher, Research Center "Oncoteranostics", National Research Tomsk Polytechnic University; <http://orcid.org/0000-0001-5281-7758>

Vladimir I. Chernov, Dr. Med. Sc., Professor, Head of Radionuclide Diagnostics Department, Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; <http://orcid.org/0000-0002-5524-9546>

Evgeniy Yu. Garbukov, Cand. Med. Sc., Senior Researcher, Department of General Oncology, Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; <http://orcid.org/0000-0002-6016-7078>

Roman V. Zelchan, Cand. Med. Sc., Senior Researcher, Radionuclide Diagnostics Department, Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; <http://orcid.org/0000-0002-4568-1781>

Anna A. Medvedeva, Cand. Med. Sc., Senior Researcher, Radionuclide Diagnostics Department, Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; <http://orcid.org/0000-0002-5840-3625>

Vladimir T. Tolmachev, Professor, Head of the Laboratory of Immunology, Genetics and Pathology, Uppsala University, Head of Research Center "Oncoteranostics", National Research Tomsk Polytechnic University; <http://orcid.org/0000-0002-6122-1734>

Abstract

Background. The chief goal in assessing the Her2/neu status in clinical practice is to identify indications for targeted therapy. The main methods for determining the Her2/neu status are an immunohistochemical method and fluorescence in situ hybridization (FISH); however, despite their widespread use, they have a number of significant disadvantages. Over the past few years, radionuclide diagnosis using a new class of alternative scaffold proteins that meet all the requirements for optimal radionuclide delivery to tumor cells has become widespread.

Objective: comparative analysis of the effectiveness of radionuclide imaging of Her2-positive breast cancer using ^{99m}Tc -labeled recombinant molecules in different dosages.

Material and methods. The investigation enrolled 22 patients with breast cancer (T1-4N0-2M0) before systemic therapy: 11 had Her2/neu overexpression; 11 had no marker expression. The patients' mean age was 50.7 ± 2.3 years. Morphological and immunohistochemical studies were performed in all cases. FISH-analysis was carried out in the presence of the Her2/neu 2+ value. The agent was prepared immediately before using in dosages of 500 and 1000 μg , after which it was slowly administered intravenously to the patient. Whole-body scintigraphy and chest single-photon emission computed tomography were conducted at 2, 4, 6 and 24 hours after administration.

Results. The radiochemical yield and radiochemical purity values were $77 \pm 9\%$ and $99 \pm 1\%$, respectively. The activity of the agent immediately before administration was $416 \pm 135 \text{ MBq}$ for the 500 μg group and $349 \pm 133 \text{ MBq}$ for 1000 μg group. Analysis of the findings indicated that the higher uptake of the agent by organs without tumor lesion was observed in the kidneys, liver, and lungs. The highest renal absorption of the agent was observed in both study groups (0.135 ± 0.042 and $0.191 \pm 0.047 \text{ mGy}$, respectively). The effective dose was $0.009 \pm 0.002 \text{ mGy}$ for the 500 μg group and $0.010 \pm 0.003 \text{ mGy}$ for the 1000 μg group. The better distribution between the tumors with Her2/neu positive and negative statuses was observed 2 hours after administration in the 500 μg group with the mean tumor/background value of 37 ± 19 for Her2-positive tumors, and 5 ± 2 for Her2-negative tumors ($p < 0.001$).

Conclusion. The findings suggest that the test radiopharmaceutical agent at a dose of 500 μg can be considered as a new additional method to diagnose Her2-positive breast tumors.

Keywords: alternative scaffold proteins; radionuclide diagnostics; Her2/neu; breast cancer; target therapy.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The work was carried out within the framework of the grant of the Ministry of Science and Higher Education, Agreement No. 075-15-2019-1925 on the theme "Development of target molecules based on scaffold proteins for the diagnosis and therapy of malignant neoplasms: theranostic approach".

For citation: Bragina OD, Chernov VI, Garbukov EYu, Zelchan RV, Medvedeva AA, Tolmachev VM. Comparative analysis of the clinical use of technetium-99m labeled recombinant target molecules in different dosages for radionuclide diagnostics of Her2-positive breast cancer. *Journal of Radiology and Nuclear Medicine*. 2021; 102(2): 89–97 (in Russian). <https://doi.org/10.20862/0042-4676-2021-102-2-89-97>

For corresponding: Olga D. Bragina, E-mail: bragina_od@mail.ru

Received November 12, 2020

Revised December 2, 2020

Accepted December 3, 2020

Введение

Рецепторы семейства эпидермального фактора роста EGFR (ErbB1/HER1, ErbB2/HER2, ErbB3/HER3, ErbB4/HER4) играют важную роль в функционировании нормальных и опухолевых клеток, отвечая за процессы клеточного деления, дифференцировки, пролиферации, миграции и апоптоза [1, 2]. Основное внимание исследователи уделяют изучению одного из представителей семейства EGF – рецептору эпидермального фактора роста 2 (Her2/neu), гиперэкспрессия которого выявляется в 15–20% случаев инвазивного рака молочной железы и характеризуется неблагоприятным прогнозом и агрессивным течением опухолевого процесса [3].

Оценка статуса Her2/neu в клинической практике прежде всего необходима для определения показаний для назначения таргетной терапии с применением таких препаратов, как трастузумаб, пертузумаб, трастузумаб эмтанзин в сочетании с химиотерапией или в монорежиме, что значительно улучшает показатели выживаемости

у больных с гиперэкспрессией данного маркера [4]. К основным методам диагностики статуса Her2/neu относятся иммуногистохимический метод и флуоресцентная гибридизация *in situ* (fluorescence in situ hybridization, FISH). Существенными недостатками указанных методик являются невозможность выполнения исследования *in vivo* с определением распространенности опухолевого процесса, оценка случаев, связанных с гетерогенностью экспрессии рецептора Her2/neu в опухолевой ткани, необходимость проведения инвазивных процедур (биопсия и/или хирургическое вмешательство), а также возможные различия экспрессии маркера в основном опухолевом и метастатических очагах [5, 6].

Продолжающийся поиск новых эффективных агентов способствовал разработке молекулярных конструкций, альтернативных связывающим доменам антител и обладающих такими характеристиками, как специфическое связывание исключительно с таргетным антигеном, отсутствие иммуногенности, стабильность и возможность

быстрой химической модификации в ходе проведения исследований [7, 8]. В течение последних нескольких лет большое распространение приобретает новый класс альтернативных каркасных белков, или скаффолдов (scaffolds), отвечающих всем требованиям для оптимальной доставки радионуклида к опухолевым клеткам [9–11]. К несомненным преимуществам данных конструкций относятся значительно меньшие размеры по сравнению со стандартным антителом, стабильная структура, дополнительная функционализация и экспрессия в бактериальной системе, высокая термостабильность, а также возможность прямого химического синтеза [12–14].

В настоящее время для диагностики злокачественных образований все большее распространение получают таргетные радионуклидные методы [15, 16], обладающие высокой специфичностью к различным молекулярным мишеням, расположенным на поверхности мембран опухолевых клеток и позволяющим визуализировать очаги различных размеров (основной опухолевый узел и метастатические очаги) [17]. До недавнего времени в качестве основного компонента радиоиммуноконъюгата использовались моноклональные антитела (мкАТ) [18]. Однако результаты исследований с применением мкАТ не оправдали возложенных на них ожиданий и выявили ряд особенностей, существенно ограничивающих их использование в клинической практике. При тщательном изучении оказалось, что мкАТ обладают значительно сниженной эффективностью взаимодействия с антигеном, неоптимальными фармакологическими свойствами, медленным распределением в организме, плохим проникновением в ткани и выведением почками (из-за высокой молекулярной массы 150 кДа). К наиболее существенному недостатку относится высокая иммуногенность применяемых мышиных мкАТ, что в ответ на их введение приводит к образованию нейтрализующих антител и, соответственно, возникновению гипериммунных реакций и снижению эффективности лечения. Стало очевидно, что для клинического применения необходимо кардинальное видоизменение мкАТ, включающее коррекцию размеров, аффинности, валентности и других характеристик.

Одними из представителей альтернативных каркасных белков являются ADAPT6, представляющие собой альбумин-связывающие домены стрептококкового протеина G и имеющие небольшие размеры (46–59 аминокислотных остатков, молекулярная масса 5–7 кДа) [19]. На этапе доклинических исследований было продемонстрировано, что меченный различными радионуклидами белок показывает высококонтрастное изображение Her2-позитивных опухолей у ксенографтов мышей всего через несколько часов после введения [20].

Результатом первого этапа клинического исследования, проводимого на базе отделения радионуклидной диагностики НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ) совместно с научно-исследовательским центром «Онкотераностика» Томского политехнического университета, стала оценка переносимости соединения у больных раком молочной железы с различной экспрессией Her2/neu, его возможного влияния на функцию жизненно важных органов и систем, а также первичное изучение функциональной пригодности препарата в дозировке 500 мкг [21, 22].

Целью настоящего исследования явилось проведение сопоставительного анализа эффективности радионуклидной визуализации Her2-позитивного рака молочной железы с применением меченных технецием-99m рекомбинантных молекул с использованием различных дозировок.

Материал и методы

Клиническое исследование было зарегистрировано¹ и одобрено биоэтическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ. В него были включены 22 пациентки с раком молочной железы (T1–4N0–2M0) до проведения системной химио- или таргетной терапии. У 11 из них была выявлена гиперэкспрессия Her2/neu, у 11 экспрессии маркера не обнаружено. Средний возраст больных составил $50,7 \pm 2,3$ года. Все пациентки подписали информированное добровольное согласие на разглашение полученных сведений².

Критериями включения в анализ являлись: впервые диагностированный и морфологически верифицированный рак молочной железы (T1–4N0–3M0–1), общее состояние больной с оценкой по системе ECOG-ВОЗ 0–2 балла, подписанное информированное согласие пациентки на участие в научном исследовании. Критерии исключения: наличие выраженной анемии, лейкопении, тромбоцитопении, сепсиса, кахексии, тяжелой сопутствующей патологии, клаустрофобии, отказ от лечения.

Морфологические методы исследования.

Во всех случаях выполняли морфологическое и иммуногистохимическое исследование биопсийного материала первичной опухоли по стандартным методикам в условиях лаборатории общей и молекулярной патологии НИИ онкологии Томского НИМЦ. Диагноз рака молочной железы устанавливали согласно гистологической классификации опухолей молочной железы (ВОЗ, 2019 г.). Иммуногистохимическое исследование биопсийного

¹ ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03991260.

² П. 3 ст. 13 Федерального закона Российской Федерации № 323-ФЗ от 21 ноября 2011 г.

материала проводили с использованием кроличьих антител фирмы Dako (Дания) к онкопротеину c-erbB-2 (рабочее разведение 1:500). При оценке результатов *отрицательными* считались случаи с отсутствием окрашивания или со слабым, прерывистым мембранным окрашиванием (категории 0 и 1+), *положительными* – случаи с сильным окрашиванием всей цитоплазматической мембраны более 10% опухолевых клеток (категории 3+). При наличии от слабого до умеренного окрашивания всей цитоплазматической мембраны более 10% опухолевых клеток (категории 2+) всем пациентам выполняли FISH-анализ с использованием ДНК-зонда ERBB2(17q12)/SE17 (Kreatech, США). Оценку результата реакции проводили с помощью люминесцентного микроскопа Axiostar PLUS (Carl Zeiss, Германия). Положительными считались результаты теста при соотношении среднего количества копий гена Her2/neu и среднего числа центромер хромосомы 17 в клетке более 2,2.

Радионуклидные методы исследования.

В исследовании использовали две дозировки вещества: 500 и 1000 мкг. Радиофармпрепарат (РФП) готовили непосредственно перед применением в отделении радионуклидной диагностики НИИ онкологии Томского НИМЦ по трикарбонильной методике с использованием набора CRS Isolink (Center for Radiopharmaceutical Science, Paul Scherrer Institute, Villigen, Швейцария) [23]. Для достижения целей в асептических условиях в набор добавляли 500 мкл (2 ГБк) элюата $^{99m}\text{TcO}_4^-$ и инкубировали в течение 30 мин при температуре 100 °С. Затем 500 мкл трикарбонильного технеция добавляли к 500 или 1000 мкг вещества и инкубировали при температуре 50 °С в течение 60 мин. Очистку полученного соединения от белковых примесей и несвязавшихся с технецием молекул ADAPT6 выполняли с использованием очистительных колонок NAP-5 (GE Healthcare, Швеция). Радиохимические выход и чистоту определяли с помощью тонкослойной радиохроматографии. Анализ хроматограмм проводили на хроматографе Chromaster HPLC (Hitachi, Япония) с радиоактивным детектором. Полученный после очищения препарат разбавляли в 10 мл стерильного 0,9% раствора NaCl, забирали через стерилизующий фильтр и после измерения активности медленно вводили пациентам внутривенно.

Сцинтиграфия в режиме whole body. Сцинтиграфические исследования выполняли на гамма-камере e.cam 180 (Siemens, Германия) в режиме whole body с использованием параллельных высокоэнергетических коллиматоров для энергии 140 КэВ в положении лежа на спине через 2, 4, 6 и 24 ч после введения препарата со скоростью сканирования 12 см/мин.

Однофотонную эмиссионную компьютерную томографию также проводили в положении лежа на спине через 2, 4, 6 и 24 ч после введения препарата, при котором в поле зрения входили шея, аксиллярная область и грудная клетка до уровня бифуркации трахеи. Осуществляли запись 32 проекций (каждая проекция по 30 с) в матрицу 64 × 64 пикселя без аппаратного увеличения.

Обработка данных и используемые показатели. Полученные данные подвергали постпроцессинговой обработке с применением специализированного пакета программ E. Soft (Siemens, Германия), при этом изучали уровень аккумуляции препарата в основных органах и тканях путем обведения зоны интереса на изображениях whole body в передней и задней проекциях. Биораспределение РФП было представлено в виде процентной доли его аккумуляции в зонах интереса от показателя общего счета в обеих проекциях. Также выполняли оценку характера накопления РФП в исследуемой области: симметричность, интенсивность, однородность, наличие и количество очаговых включений индикатора в исследуемом органе, регионарных лимфоузлах (патологией считались асимметричные участки гиперфиксации РФП), наличие других очагов патологического включения РФП в пределах исследуемой области. Кроме того, в исследуемых группах рассчитывали количественный показатель «опухоль/фон», отражающий степень аккумуляции препарата в патологическом очаге по сравнению с интактными тканями. Оценку показателя проводили путем обведения зоны интереса опухоли на аксиальных срезах с наилучшей визуализацией последней; в качестве «фона» использовали симметричные зоны интереса контралатеральной молочной железы.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета программ Statistica 10.0 для Windows. Анализ проводили с помощью непараметрического метода Манна-Уитни. Различие двух сравниваемых величин считали достоверным в том случае, если вероятность их тождества была меньше 5% ($p < 0,05$). Для подсчета дозы абсорбции РФП применяли программу OLINDA/EXM. 1.1 с использованием фантома «взрослой женщины».

Результаты

По данным проведенного анализа показатели радиохимического выхода и радиохимической чистоты составили $77 \pm 9\%$ и $99 \pm 51\%$ соответственно. Активность препарата ^{99m}Tc -ADAPT6 непосредственно перед введением для группы с дозировкой 500 мкг составила 416 ± 135 МБк, для группы с дозировкой 1000 мкг – 349 ± 133 МБк.

Большой захват ^{99m}Tc органами без опухолевого поражения отмечался в почках, печени и легких.

Рис. 1. Распределение препарата ^{99m}Tc -ADAPT6 в органах и тканях больных в группах с использованием дозировок 500 и 1000 мкг (стрелками указаны основной опухолевый узел и расположенные рядом метастатические лимфатические узлы)

Fig. 1. Distribution of ^{99m}Tc -ADAPT6 in the organs and tissues of patients in groups with dosages of 500 and 1000 µg (the arrows indicate the main tumor nodule and nearby metastatic lymph nodes)

Таблица 1

Наибольший захват радиофармпрепарата органами без опухолевого поражения на планарной сцинтиграфии после введения ^{99m}Tc -ADAPT6, %

Table 1

The highest radiopharmaceutical uptake by organs without a tumor lesion on planar scintigraphy after ^{99m}Tc -ADAPT6 administration, %

Орган / Organ	2 ч после введения / 2 hours after administration		4 ч после введения / 4 hours after administration		6 ч после введения / 6 hours after administration		24 ч после введения / 24 hours after administration	
	500 мкг / 500 µg	1000 мкг / 1000 µg	500 мкг / 500 µg	1000 мкг / 1000 µg	500 мкг / 500 µg	1000 мкг / 1000 µg	500 мкг / 500 µg	1000 мкг / 1000 µg
Почки / Kidneys	27 ± 10	35 ± 9	31 ± 12	36 ± 10	32 ± 9	45 ± 11	29 ± 10	38 ± 10
Легкие / Lungs	3,3 ± 0,8	2,7 ± 0,6	2,5 ± 0,8	2,2 ± 0,4	2,0 ± 0,6	2,0 ± 0,4	1,4 ± 0,8	2,7 ± 0,4
Печень / Liver	3,2 ± 1,1	2,4 ± 0,8	2,2 ± 1,1	2,4 ± 1,0	2,6 ± 0,8	2,0 ± 0,7	2,4 ± 1,0	2,0 ± 0,7
Тонкий кишечник / Small bowel	0,8 ± 0,3	1,0 ± 0,3	0,9 ± 0,3	1,3 ± 0,5	0,8 ± 0,3	1,3 ± 0,5	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,3

Умеренная активность соединения была выявлена в желудочно-кишечном тракте. Полученные результаты представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

При оценке элиминации препарата ^{99m}Tc -ADAPT6 из кровяного русла время выведения для группы с дозой 500 мкг составило 2,4–4 ч, с дозой 1000 мкг – 2,3–3,9 ч (рис. 2).

Наибольшая абсорбция препарата отмечена в почках в обеих группах исследования ($0,135 \pm 0,042$ и $0,191 \pm 0,047$ мГр соответственно). Дозы абсорбции для надпочечников ($0,023 \pm 0,005$ и $0,032 \pm 0,009$ мГр), селезенки ($0,011 \pm 0,003$ и $0,015 \pm 0,004$ мГр), желудка ($0,006 \pm 0,001$ и $0,008 \pm 0,002$ мГр), матки ($0,005 \pm 0,001$ и $0,007 \pm 0,002$ мГр) и щитовидной железы ($0,009 \pm 0,004$ и $0,014 \pm 0,005$) были достоверно выше в группе с использованием дозы 1000 мкг ($p < 0,05$). Эффективная доза для группы 500 мкг составила $0,009 \pm 0,002$ мГр, для группы 1000 мкг – $0,010 \pm 0,003$ мГр (табл. 2).

Рис. 2. Элиминация препарата ^{99m}Tc -ADAPT6 из кровяного русла в группах с использованием 500 мкг (выделено серым) и 1000 мкг вещества (выделено черным)

Fig. 2. Elimination of ^{99m}Tc -ADAPT6 from the bloodstream in the 500 µg (grey) and 1000 µg (black) groups

Таблица 2

Распределение препарата ^{99m}Tc -ADAPT6 в органах и тканях после введения у больных раком молочной железы

Table 2

Distribution of ^{99m}Tc -ADAPT6 in the organs and tissues after its administration to patients with

Референсный орган / Reference organ	Абсорбционная доза, мГр / Absorption dose, mGy	
	500 мкг / 500 μg	1000 мкг / 1000 μg
Надпочечники / Adrenals	0,023 $\pm$ 0,005*	0,032 $\pm$ 0,009*
Головной мозг / Brain	0,001 $\pm$ 0,000	0,001 $\pm$ 0,000
Молочная железа / Breast	0,007 $\pm$ 0,002	0,009 $\pm$ 0,005
Желчный пузырь / Gallbladder	0,013 $\pm$ 0,008	0,012 $\pm$ 0,003
Нижняя стенка толстой кишки / Inferior large bowel wall	0,005 $\pm$ 0,001	0,005 $\pm$ 0,001
Тонкая кишка / Small bowel	0,006 $\pm$ 0,001	0,008 $\pm$ 0,002
Желудок / Stomach	0,006 $\pm$ 0,001*	0,008 $\pm$ 0,002*
Верхняя стенка толстой кишки / Upper large bowel wall	0,007 $\pm$ 0,001	0,008 $\pm$ 0,002
Сердце / Heart	0,004 $\pm$ 0,001	0,004 $\pm$ 0,001
Почки / Kidneys	0,135 $\pm$ 0,042	0,191 $\pm$ 0,047
Печень / Liver	0,011 $\pm$ 0,008	0,008 $\pm$ 0,002
Легкие / Lungs	0,005 $\pm$ 0,001	0,006 $\pm$ 0,001
Яичники / Ovaries	0,008 $\pm$ 0,002	0,010 $\pm$ 0,003
Поджелудочная железа / Pancreas	0,011 $\pm$ 0,002	0,014 $\pm$ 0,004
Мышцы / Muscles	0,003 $\pm$ 0,000	0,003 $\pm$ 0,001
Красный костный мозг / Red bone marrow	0,004 $\pm$ 0,001	0,005 $\pm$ 0,001
Остеогенные клетки / Osteogenic cells	0,006 $\pm$ 0,001	0,008 $\pm$ 0,001
Кожа / Skin	0,001 $\pm$ 0,000	0,002 $\pm$ 0,000
Селезенка / Spleen	0,011 $\pm$ 0,003*	0,015 $\pm$ 0,004*
Тимус / Thymus	0,005 $\pm$ 0,002	0,006 $\pm$ 0,002
Щитовидная железа / Thyroid	0,009 $\pm$ 0,004*	0,014 $\pm$ 0,005*
Мочевой пузырь / Bladder	0,012 $\pm$ 0,007	0,012 $\pm$ 0,006
Матка / Uterine	0,005 $\pm$ 0,001*	0,007 $\pm$ 0,002*
Все тело / Whole body	0,004 $\pm$ 0,001	0,005 $\pm$ 0,001
Эквивалентная эффективная доза, мЗв/МБк / Equivalent effective dose, mZv/MBq	0,017 $\pm$ 0,004	0,022 $\pm$ 0,004
Эффективная доза, мЗв/МБк / Effective dose, mZv/MB	0,009 $\pm$ 0,002	0,010 $\pm$ 0,003

* $p < 0,05$.

Рис. 3. Распределение накопления радиофармпрепарата ^{99m}Tc -ADAPT6 в опухолевой ткани у больных с Her2-позитивным (выделено черным) и Her2-негативным (выделено серым) раком молочных желез при использовании 500 и 1000 мкг активного вещества в различные временные интервалы после введения

Fig. 3. Distribution of the accumulation of the radiopharmaceutical agent ^{99m}Tc -ADAPT6 in the tumor tissue of patients with Her2-positive breast cancer (black) and those with Her2-negative breast cancer (grey) when using 500 and 1000 μg of the active substance at different time intervals after administration

Лучшее распределение между опухолями с положительным и отрицательным статусами Her2/neu зафиксировано через 2 ч после применения ^{99m}Tc -ADAPT6 в дозировке 500 мкг со средним значением «опухоль/фон» 37 ± 19 для Her2-положительных опухолей и 5 ± 2 для Her2-негативных опухолей ($p < 0,001$). Различия между группами на других временных отрезках было недостоверно (рис. 3).

Обсуждение

Исследование продемонстрировало высокую специфичность изучаемого соединения в отношении Her2-положительных опухолей молочной железы через 2 часа после введения препарата ^{99m}Tc -ADAPT6 независимо от используемой дозировки. Несмотря на это, более значимые результаты (среднее значение «опухоль/фон» 37 ± 19) были отмечены в группе больных, получивших 500 мкг основного вещества ($p < 0,001$). Данные свиде-

тельствуют о достижении оптимальной дозировки ^{99m}Tc -ADAPT6 с получением качественных и информативных изображений уже на ранних этапах после введения, что существенно сокращает вводимую активность и, соответственно, эффективную дозу диагностического препарата.

Нельзя не отметить, что исследуемое соединение ^{99m}Tc -ADAPT6 применимо для однофотонной эмиссионной компьютерной томографии, которая наиболее распространена в странах Азии, Африки и Южной Америки, что существенно сокращает срок, стоимость и доступность производства препарата.

Заключение

Радиофармацевтический препарат ^{99m}Tc -ADAPT6 в дозе 500 мкг можно рассматривать в качестве нового дополнительного метода диагностики Her2-положительных опухолей молочной железы.

Литература

- Gebhart G, Lamberts LE, Wimana Z, Garcia C, Emonts P, Ameye L, et al. Molecular imaging as a tool to investigate heterogeneity of advanced HER2-positive breast cancer and to predict patient outcome under trastuzumab emtansine (T-DM1): the ZEPHIR trial. *Ann Oncol*. 2016; 27(4): 619–24. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv577>.
- Bartley AN, Washington MK, Ventura CB, Ismaila N, Colasacco C, Benson AB 3rd, et al. HER2 testing and clinical decision making in gastroesophageal adenocarcinoma: guideline from the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. *Arch Pathol Lab Med*. 2016; 140(12): 1345–63. <https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0331-CP>.
- Tolmachev V. Imaging of HER-2 overexpression in tumors for guiding therapy. *Curr Pharm Des*. 2008; 14(28): 2999–3019. <https://doi.org/10.2174/138161208786404290>.
- Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013; 31(31): 3997–4013. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.50.9984>.
- Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радиоиммунотерапия: современное состояние проблемы. *Вопросы онкологии*. 2016; 62(1): 24–30.
- Брагина О.Д., Чернов В.И., Зельчан Р.В., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Ларькина М.С. Альтернативные каркасные белки в радионуклидной диагностике злокачественных образований. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18(3): 125–33. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-125-133>.
- Zavyalova M, Vtorushin S, Telegina N, Krakhmal N, Savelieva O, Tashireva L, et al. Clinicopathological features of nonspecific invasive breast cancer according to its molecular subtypes. *Experimental Oncology*. 2016; 38 (2): 122–7.
- Azhar A, Ahmad E, Zia Q, Rauf MA, Owais M, Ashraf GM. Recent advances in the development of novel protein scaffolds based therapeutics. *Int J Biol Macromol*. 2017; 102: 630–41. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.045>.
- Nilvebrant J, Hober S. The albumin-binding domain as a scaffold for protein engineering. *Comput Struct Biotechnol J*. 2013; 6:e201303009. <https://doi.org/10.5936/CSBJ.201303009>.
- Nilvebrant J, Åstrand M, Georgieva-Kotseva M, Björnholm M, Löfblom J, Hober S. Engineering of bispecific affinity proteins with high affinity for ERBB2 and adaptable binding to albumin. *PLoS One*. 2014; 9(8): e103094. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103094>.
- Krasniqi A, D'Huyvetter M, Devoogdt N, Frejd FY, Sorensen J, Orlova A., et al. Same-day imaging using small proteins: clinical experience and translational prospects in oncology. *J Nucl Med*. 2018; 59(6): 885–91. <https://doi.org/10.2967/jnumed.117.199901>.
- Sandström M, Lindskog K, Velikyan I, Wennborg A, Feldwisch J, Sandberg D, et al. Biodistribution and radiation dosimetry of the anti-HER2 affibody molecule 68Ga-ABY-025 in breast cancer patients. *J Nucl Med*. 2016; 57(6): 867–71. <https://doi.org/10.2967/jnumed.115.169342>.
- Sörensen J, Velikyan I, Sandberg D, Wennborg A, Feldwisch J, Tolmachev V, et al. Measuring HER2-receptor expression in metastatic breast cancer using [68Ga]ABY-025 Affibody PET/CT. *Theranostics*. 2016; 6(2): 262–71. <https://doi.org/10.7150/thno.13502>.
- Keyaerts M, Xavier C, Heemskerk J, Devoogdt N, Everaert H, Ackaert C, et al. Phase I study of 68Ga-HER2-nanobody for PET/CT assessment of HER2 expression in breast carcinoma. *J Nucl Med*. 2016; 57(1): 27–33. <https://doi.org/10.2967/jnumed.115.162024>.
- Брагина О.Д., Ларькина М.С., Стасюк Е.С., Чернов В.И., Юсубов М.С., Скуридин В.С. и др. Разработка высокоспецифичного радиохимического соединения на основе меченных ^{99m}Tc рекомбинантных адресных молекул для визуализации клеток с гиперэкспрессией Her2/neu. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16(3): 25–33. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-3-25-33>.
- Tolmachev V, Orlova A, Andersson K. Methods for radiolabelling of monoclonal antibodies. *Methods Mol Biol*. 2014; 1060: 309–30. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-586-6_16.
- Simeon R, Chen Z. In vitro-engineered non-antibody protein therapeutics. *Protein Cell*. 2018; 9(1): 3–14. <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0386-6>.
- Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Ц. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных образований. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (1): 220–31. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-1-220-231>.
- Garousi J, Lindbo S, Nilvebrant J, Åstrand M, Buijs J, Sandström M, et al. ADAPT, a novel scaffold protein-based probe for radionuclide imaging of molecular targets that are expressed in disseminated cancers. *Cancer Res*. 2015; 75(20): 4364–71. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3497>.

20. Lindbo S, Garousi J, Åstrand M, Honarvar H, Orlova A, Hober S, Tolmachev V. Influence of histidine-containing tags on the biodistribution of ADAPT scaffold proteins. *Bioconjug Chem*. 2016; 27(3): 716–26. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00677>.
21. Bragina O, von Witting E, Garousi J, Zelchan R, Sandström M, Medvedeva A, et al. Phase I study of ^{99m}Tc -ADAPT6, a scaffold protein-based probe for visualization of HER2 expression in breast cancer. *J Nucl Med*. 2021; 62(4): 493–9. <https://doi.org/10.2967/jnumed.120.248799>.
22. Брагина О.Д., Чернов В.И., Гарбуков Е.Ю., Дорошенко А.В., Воробьева А.Г., Орлова А.М., Толмачев В.М. Возможности радионуклидной диагностики Her2-позитивного рака молочной железы с использованием меченных технецием-99m таргетных молекул: первый опыт клинического применения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20(1): 23–30. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-23-30>.
23. Vorobyeva A, Schulga A, Konovalova E, Güler R, Löfblom J, Sandström M, et al. Optimal composition and position of histidine-containing tags improves biodistribution of ^{99m}Tc -labelled DARP in G3. *Scientific Reports*. 2019; 9(1): 9405. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45795-8>.

References

1. Gebhart G, Lamberts LE, Wimana Z, Garcia C, Emonts P, Ameye L, et al. Molecular imaging as a tool to investigate heterogeneity of advanced HER2-positive breast cancer and to predict patient outcome under trastuzumab emtansine (T-DM1): the ZEPHIR trial. *Ann Oncol*. 2016; 27(4): 619–24. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv577>.
2. Bartley AN, Washington MK, Ventura CB, Ismaila N, Colasacco C, Benson AB 3rd, et al. HER2 testing and clinical decision making in gastroesophageal adenocarcinoma: guideline from the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. *Arch Pathol Lab Med*. 2016; 140(12): 1345–63. <https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0331-CP>.
3. Tolmachev V. Imaging of HER-2 overexpression in tumors for guiding therapy. *Curr Pharm Des*. 2008; 14(28): 2999–3019. <https://doi.org/10.2174/138161208786404290>.
4. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013; 31(31): 3997–4013. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.50.9984>.
5. Chernov VI, Bragina OD, Sinilkin IG, Medvedeva AA, Zelchan RV. Radioimmunotherapy: current state of the problem. *Problems in Oncology*. 2016; 62(1): 24–30 (in Russ.).
6. Bragina OD, Chernov VI, Zelchan RV, Sinilkin IG, Medvedeva AA, Larkina MS. Alternative scaffolds in radionuclide diagnosis of malignancies. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18(3): 125–33 (in Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-125-133>.
7. Zavyalova M, Vtorushin S, Telegina N, Krakhmal N, Savelieva O, Tashireva L, et al. Clinicopathological features of nonspecific invasive breast cancer according to its molecular subtypes. *Experimental Oncology*. 2016; 38 (2): 122–7.
8. Azhar A, Ahmad E, Zia Q, Rauf MA, Owais M, Ashraf GM. Recent advances in the development of novel protein scaffolds based therapeutics. *Int J Biol Macromol*. 2017; 102: 630–41. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.045>.
9. Nilvebrant J, Hober S. The albumin-binding domain as a scaffold for protein engineering. *Comput Struct Biotechnol J*. 2013; 6:e201303009. <https://doi.org/10.5936/csbj.201303009>.
10. Nilvebrant J, Åstrand M, Georgieva-Kotseva M, Björnmalm M, Löfblom J, Hober S. Engineering of bispecific affinity proteins with high affinity for ERBB2 and adaptable binding to albumin. *PLoS One*. 2014; 9(8): e103094. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103094>.
11. Krasniqi A, D'Huyvetter M, Devoogdt N, Frejd FY, Sorensen J, Orlova A., et al. Same-day imaging using small proteins: clinical experience and translational prospects in oncology. *J Nucl Med*. 2018; 59(6): 885–91. <https://doi.org/10.2967/jnumed.117.199901>.
12. Sandström M, Lindskog K, Velikyan I, Wennborg A, Feldwisch J, Sandberg D, et al. Biodistribution and radiation dosimetry of the anti-HER2 affibody molecule 68Ga-ABY-025 in breast cancer patients. *J Nucl Med*. 2016; 57(6): 867–71. <https://doi.org/10.2967/jnumed.115.169342>.
13. Sörensen J, Velikyan I, Sandberg D, Wennborg A, Feldwisch J, Tolmachev V, et al. Measuring HER2-receptor expression in metastatic breast cancer using [68Ga]ABY-025 Affibody PET/CT. *Theranostics*. 2016; 6(2): 262–71. <https://doi.org/10.7150/thno.13502>.
14. Keyaerts M, Xavier C, Heemskerk J, Devoogdt N, Everaert H, Ackaert C, et al. Phase I study of 68Ga-HER2-nanobody for PET/CT assessment of HER2 expression in breast carcinoma. *J Nucl Med*. 2016; 57(1): 27–33. <https://doi.org/10.2967/jnumed.115.162024>.
15. Bragina OD, Larkina MS, Stasyuk ES, Chernov VI, Yusubov MS, Skuridin VS, et al. The development of a highly specific radiochemical compound based on labeled ^{99m}Tc recombinant molecules for targeted imaging of cells with the overexpression of Her2/neu. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16(3): 25–33 (in Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-3-25-33>.
16. Tolmachev V, Orlova A, Andersson K. Methods for radiolabeling of monoclonal antibodies. *Methods Mol Biol*. 2014; 1060: 309–30. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-586-6_16.
17. Simeon R, Chen Z. In vitro-engineered non-antibody protein therapeutics. *Protein Cell*. 2018; 9(1): 3–14. <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0386-6>.
18. Chernov VI, Medvedev AA, Sinilkin IG, Zelchan RV, Bragina OD, Choyzonov EL. Nuclear medicine as a tool for diagnosis and targeted cancer therapy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (1): 220–31 (in Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-1-220-231>.
19. Garousi J, Lindbo S, Nilvebrant J, Åstrand M, Buijs J, Sandström M, et al. ADAPT, a novel scaffold protein-based probe for radionuclide imaging of molecular targets that are expressed in disseminated cancers. *Cancer Res*. 2015; 75(20): 4364–71. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3497>.
20. Lindbo S, Garousi J, Åstrand M, Honarvar H, Orlova A, Hober S, Tolmachev V. Influence of histidine-containing tags on the biodistribution of ADAPT scaffold proteins. *Bioconjug Chem*. 2016; 27(3): 716–26. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00677>.
21. Bragina O, von Witting E, Garousi J, Zelchan R, Sandström M, Medvedeva A, et al. Phase I study of ^{99m}Tc -ADAPT6, a scaffold protein-based probe for visualization of HER2 expression in breast cancer. *J Nucl Med*. 2021; 62(4): 493–9. <https://doi.org/10.2967/jnumed.120.248799>.
22. Bragina OD, Chernov VI, Garbukov EYu, Doroshenko AV, Vorobyeva AG, Orlova AM, Tolmachev VM. Possibilities of radionuclide diagnostics of Her2-positive breast cancer using technetium-99m-labeled target molecules: the first experience of clinical use. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20(1): 23–30. (In Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-23-30>.
23. Vorobyeva A, Schulga A, Konovalova E, Güler R, Löfblom J, Sandström M, et al. Optimal composition and position of histidine-containing tags improves biodistribution of ^{99m}Tc -labelled DARP in G3. *Scientific Reports*. 2019; 9(1): 9405. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45795-8>.