

© ЧУБАРОВ А. С., АКУЛОВ А. Е., ШЕВЕЛЕВ О. Б., ЗАВЬЯЛОВ Е. Л., ГОДОВИКОВА Т. С.

УДК 616-006, 616-073, 537.635

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ЗОНДЫ НА ОСНОВЕ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ОПУХОЛЕЙ МЕТОДАМИ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ И ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

А. С. Чубаров<sup>1,2</sup>, А. Е. Акулов<sup>3</sup>, О. Б. Шевелев<sup>3</sup>, Е. Л. Завьялов<sup>3</sup>, Т. С. Годовикова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Новосибирский государственный университет;

<sup>3</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск.

**Резюме.** На основе человеческого сывороточного альбумина получен бимодальный зонд, снабженный флуоресцентной и <sup>19</sup>F ЯМР метками, оптимальными для мультимодальной молекулярной визуализации злокачественной опухоли. С его использованием осуществлена прижизненная молекулярная визуализация экспериментальной глиобластомы U87, ортотопически ксенотрансплантированной мышам иммунодефицитной линии SCID.

**Ключевые слова:** человеческий сывороточный альбумин, экспериментальная глиома, бимодальный зонд, магнитно-резонансная томография на ядрах <sup>19</sup>F, флуоресцентная томография.

## MOLECULAR PROBES BASED ON THE HUMAN SERUM ALBUMIN FOR TUMOR VISUALIZATION BY METHODS OF MAGNETIC RESONANCE AND FLUORESCENCE TOMOGRAPHY

A. S. Chubarov, A. E. Akulov, O. B. Shevelyov, E. L. Zavyalov, T. S. Godovikova

**Abstract.** On the basis of human serum albumin was obtained a bimodal probe, equipped with fluorescence and <sup>19</sup>F NMR tags, optimized for multi-modal molecular visualization of malignant tumor. With its use was carried the lifetime molecular visualization of experimental glioblastoma U87, orthotopically xenotransplanted to the mice of immunodeficient line SCID.

**Key words:** Human serum albumin, an experimental glioma, bimodal probe, magnetic resonance tomography on <sup>19</sup>F nuclei, fluorescence tomography.

Злокачественные новообразования являются одной из основных причин смерти и инвалидизации населения развитых, а в последние годы и развивающихся стран. Лидирующее место в структуре нейроонкологических заболеваний занимают глиобластомы – нейроэктодермальные опухоли головного мозга человека, заболеваемость которыми с каждым годом продолжает расти. В современной медицине стандартом лечения злокачественных

новообразований является комплексный мультидисциплинарный подход, включающий хирургическое удаление опухоли с последующим применением адъювантных методов лучевого и химиотерапевтического воздействия. Хирургия мозга, использующая метод флуоресцентной томографии, является новым признанным методом лечения пациентов с глиомой [1, 2] gross total resection, and prognosis. The summary receiver operating characteristic curves (SROC. Она

предоставляет возможность лучше определять границы опухоли, что позволяет достигнуть максимального терапевтического эффекта и уменьшить вредное воздействие. Однако она малоприменима для клинических исследований ввиду ограничения по глубине детекции мишени. Магнитно-резонансная томография (МРТ) является в данном случае наиболее перспективной методикой, предоставляющей самые широкие диагностические возможности [3]. Сочетание интраоперационной флуоресцентной визуализации с предоперационной магнитно-резонансной томографией позволяет существенно улучшить разрешение и глубину визуализации. Чтобы связать различные клинические приложения метода томографии для диагностики и лечения опухолей, желательно использовать одну и ту же наноконструкцию, функционализированную разным типом меток [3-5].

Цель настоящей работы – получение и исследование возможности использования мультимодальных зондов на основе человеческого сывороточного альбумина (HSA), содержащих магнитно-резонансную метку (ядра  $^{19}\text{F}$ ) и флуорофор, для прижизненной визуализации злокачественной опухоли.

Ранее [6], нами был разработан подход к декорированию альбумина разным типом меток. В настоящей работе с его использованием был получен конъюгат альбумина PFT-Hcy-HSA-Cy7, содержащий магнитно-резонансную метку (остаток перфтортолуола) и флуоресцентный краситель Cy7 (рис. 1). Поскольку бимодальный зонд PFT-Hcy-HSA-Cy7 содержит флуоресцентную метку, использование гибридной

система 3D оптической визуализации и компьютерной томографии (InSyTe™ FLECT/CT) позволило получить два изображения, путем наложения которых удалось четко локализовать молекулярный зонд в организме экспериментальных животных (рис. 1).

Мыши, использованные для исследовательских испытаний, были линии SCID (severe combined immunodeficiency) SPF-статуса. Сотрудниками ЦКП «SPF-виварий ИЦиГ СО РАН» была отработана модель ортотопической ксенотрансплантации клеток глиобластомы человека U87 экспериментальным животным [7], которая была использована в качестве *in vivo* экспериментальной модели для оценки возможности применения  $^{19}\text{F}$  МРТ в тандеме с флуоресцентной и компьютерной томографией для исследования свойств бимодального зонда PFT-Hcy-HSA-Cy7. Эксперименты выполняли в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях и правилами «Лабораторной практики в Российской Федерации».

Подкожное введение зонда PFT-Hcy-HSA-Cy7 экспериментальным животным, инфильтрированным глиобластомой U87 человека, и последующая прижизненная молекулярная флуоресцентная визуализация с привлечением метода FLECT/CT демонстрируют распространение в организме исследуемого образца и накопление его в опухоли (рис. 1).

Применение МРТ для обнаружения опухоли в организме является общепринятым мировым



Рис. 1. Слева: изменение распространения флуоресцентного сигнала от PFT-Hcy-HSA-Cy7 при подкожном введении, полученного с помощью комбинации компьютерной и оптической томографии (FLECT/CT) сразу после введения и через 24 ч. Визуализируемый очаг (глиома) отмечен стрелкой. Справа: структура бимодального зонда PFT-Hcy-HSA-Cy7.

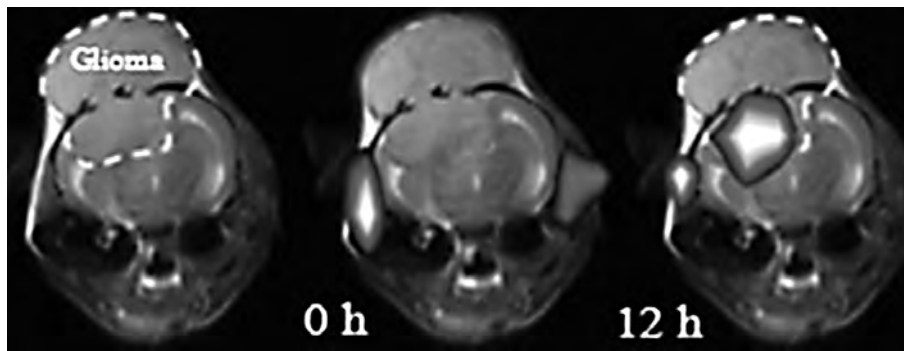


Рис. 2. *In vivo* МРТ-визуализация опухоли U87 и накопления в ней зонда. Слева –  $^1\text{H}$  МРТ до инъекции; в центре – наложение  $^{19}\text{F}/^1\text{H}$  томограмм сразу после подкожной инъекции зонда в область шеи; справа – наложение  $^{19}\text{F}/^1\text{H}$  томограмм спустя 12 ч. Белым пунктиром обозначены границы опухоли. (Рисунок воспроизведен из работы [6] с разрешения Elsevier).

подходом. Преимуществом ЯМР  $^{19}\text{F}$  является, с одной стороны, схожесть резонансных характеристик ядер фтора (470 МГц при 11,7 Тесла) и водорода (500 МГц при 11,7 Тесла), а с другой стороны – отсутствие фтора в организме живых существ. Положение зонда, содержащего  $^{19}\text{F}$ -ЯМР метку, детектируется как «горячее пятно на холодном фоне». Наличие  $^{19}\text{F}$  ЯМР-метки (остаток перфтортолуола) в составе бимодального зонда PFT-Hcy-HSA-Cy7, позволили нам получить с помощью комбинации  $^1\text{H}$ - и  $^{19}\text{F}$ -изображений в МРТ-анализе трехмерную картину опухоли и место локализации молекулярного зонда в организме (рис. 2). Как можно увидеть на рис. 2, через 12 ч после подкожной инъекции мышам в область шеи молекулярного зонда происходит его накопление в опухоли головного мозга (рис. 2).

Полученные результаты демонстрируют, что человеческий сывороточный альбумин, декорированный флуорофором и  $^{19}\text{F}$  ЯМР метками, обладает значительным потенциалом для прижизненной молекулярной визуализации экспериментальной глиобластомы с применением методов оптической томографии и  $^{19}\text{F}$  МРТ.

*Работа выполнена при поддержке грантом Минобрнауки РФ № 14.613.21.0015 (RFMEFI61314X0015).*

### Литература

1. Su X., Huang Q. F., Chen H. L., Chen J. Fluorescence-guided resection of high-grade gliomas: A systematic review and meta-analysis // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2014. – Vol. 11. – P. 451-458.
2. Acerbi F., Cavallo C., Broggi M., Cordella R., Anghileri E., Eoli M., Schiariti M., Broggi G., Ferroli P. Fluorescein-guided surgery for malignant gliomas: A review // *Neurosurg. Rev.* – 2014. – Vol. 37. – P. 547-557.
3. Чубаров А.С., Ahmad S., Сильников В.Н., Годовикова Т.С. Визуализирующие системы на основе человеческого сывороточного альбумина для МРТ диагностики патологических процессов // *Химия в интересах устойчивого развития.* – 2016. – Vol. 24. – P. 585-595.
4. Liu Z., Chen X. Simple bioconjugate chemistry serves great clinical advances: albumin as a versatile platform for diagnosis and precision therapy // *Chem. Soc. Rev.* – 2016. – Vol. 45. – P. 1432-1456.
5. Larsen M.T., Kuhlmann M., Hvam M.L., Howard K.A. Albumin-based drug delivery: harnessing nature to cure disease // *Mol. Cell. Ther.* – 2016. – Vol. 4. – P. 1-12.
6. Chubarov A.S., Zakhарова O.D., Koval O.A., Romaschenko A.V., Akulov A.E., Zavjalov E.L., Razumov I.A., Koptyug I.V., Knorre D.G., Godovikova T.S. Design of protein homocystamides with enhanced tumor uptake properties for  $^{19}\text{F}$  magnetic resonance imaging // *Bioorg. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 23. – P. 6943-6954.
7. Zavjalov E. L., Razumov I. A., Gerlinskaya L. A., Romashchenko A. V. *In vivo* MRI visualization of growth and morphology in the orthotopic xenotransplantation U87 glioblastoma mouse SCID model // *Vavilov J. Genet. Breed.* – 2015. – Vol. 19, № 4. – P. 460-465.