

А.С. Лунёв^{1,2}**МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КИНЕТИКИ ТРАНСПОРТА РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ⁶⁸GA-ЦИТРАТ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ВОСПАЛЕНИЙ**A.S. Lunev^{1,2}**Mathematical Simulation of Transport Kinetics of Radiopharmaceutical ⁶⁸Ga-Citrate for PET Imaging of Inflammation**

РЕФЕРАТ

ABSTRACT

Цель: Одним из перспективных радиофармпрепаратов (РФП) для ПЭТ-визуализации воспалений является ⁶⁸Ga-цитрат — аналог ⁶⁷Ga-цитрата. Однако определенные трудности, связанные с фармакокинетикой РФП (медленный клиренс крови, длительный период накопления в очаге воспаления) и малым периодом полураспада галлия-68 (67,8 мин), подразумевают необходимость откладывания процедуры сканирования (до 24–72 ч) и исключают возможность применения короткоживущего изотопа. Предложенный путь решения такой задачи, а именно дополнительное введение конкурентного химического агента в виде цитрата железа, должен быть количественно оправдан. Поэтому целью является создание и исследование математической (камерной) модели кинетики транспорта ⁶⁸Ga-цитрата в присутствии цитрата стабильного железа (III).

Материал и методы: Объектами исследования являлись ⁶⁸Ga-цитрат и цитрат железа (III). Материалом исследования являлись нелинейные крысы-самки с моделью асептического воспаления мягких тканей, разбитые на две группы по способу введения ⁶⁸Ga-цитрата (с/без цитрата железа). Количественные данные о биораспределении ⁶⁸Ga-цитрата (с/без цитрата железа) в организме крыс впоследствии были использованы для создания математической модели кинетики транспорта препарата и расчета фармакокинетических параметров.

Результаты: По данным созданной математической модели дополнительное введение цитрата железа (III) позволило существенно ускорить клиренс крови от ⁶⁸Ga-цитрата, замедлить его аккумуляцию в печени и экскрецию через кишечник и, напротив, повысить накопление и удержание ⁶⁸Ga-цитрата в очаге воспаления.

Выводы: Математические расчеты количественно подтвердили, что дополнительное введение цитрата железа (III) благоприятно сказывается на качестве визуализации воспалительных процессов методом позитронной эмиссионной томографии.

Ключевые слова: ⁶⁸Ga-цитрат, радиофармпрепарат, математическое моделирование, камерная модель

Purpose: ⁶⁸Ga-citrate is ⁶⁷Ga-citrate analogue and prospective radiopharmaceutical for PET imaging of inflammation and infection. However, some pharmacokinetic hardships such as low blood clearance and long accumulation time in foci (24–72 h) except application possibility of the short-lived gallium-68 ($T_{1/2} = 68$ min). Proposed solution of this problem (extra injection of competitive chemical agent; here: Fe-citrate) should be proved quantitatively. Therefore the aim of this study is the creation of a mathematical (compartment) model for the transport kinetics of radiopharmaceutical ⁶⁸Ga-citrate with extra injection of stable Fe-citrate.

Material and methods: ⁶⁸Ga-citrate and stable Fe-citrate for i. v. injection are the objects of our study. Nonlinear rats' females (two groups: with/without extra injection of Fe-citrate) with soft tissue inflammation were used. Mathematical simulation of transport kinetics for calculation of pharmacokinetic parameters was created according to the rats' biodistribution of ⁶⁸Ga-citrate.

Results: Extra i. v. injection of Fe-citrate allowed accelerating blood clearance from ⁶⁸Ga-citrate, significantly decelerated its liver accumulation and excretion through intestine. Moreover, extra injection of Fe-citrate allowed for the increase of ⁶⁸Ga-citrate accumulation and retention in inflammation site.

Conclusion: Mathematical calculations quantitatively confirmed that extra injection of Fe-citrate had a positive impacted on PET imaging of inflammation.

Key words: ⁶⁸Ga-citrate, radiopharmaceutical, mathematical simulation, compartment model

Введение

При внутривенном введении РФП происходит его встраивание в метаболические пути организма путем связывания и биотрансформации с метаболитами, от чьей кинетики будет зависеть достижение конечного результата — терапевтического или диагностического эффекта. Такие лучевые исследования с применением РФП в диагностических или терапев-

тических целях сопряжены с риском развития ряда осложнений, напрямую связанных с ионизирующим излучением радионуклида [1, 2]. Поэтому в процессе доказательства функциональной пригодности РФП необходимо положительно скорректировать его фармакокинетику для последующего доказательства радиационной безопасности.

Создание математической модели кинетики транспорта РФП *in vivo*, опираясь на эксперимен-

¹ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва. E-mail: 15h33@rambler.ru

² Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина

¹ A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA, Moscow, Russia. E-mail: 15h33@rambler.ru

² Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia

тальные данные, позволяет количественно оценить скорость перехода РФП между органами — камерами или компартаментами. Метод камерных моделей и построения экспоненциальных функций камерного накопления—выведения дает естественную возможность строить индивидуальные модели обращения РФП в критических органах и патологических очагах и тем самым обеспечить более адекватную оценку уровней их внутреннего облучения, чем применение стандартных методик из рекомендаций МКРЗ [3].

Одним из перспективных препаратов для ПЭТ-визуализации воспалений является ^{68}Ga -цитрат — аналог ^{67}Ga -цитрата, уже около сорока лет применяющегося в клинической практике ОФЭКТ-визуализации [4]. Известно, что после его внутривенного введения, происходит реакция перелигандирования, и галлий связывается с трансферрином плазмы крови — белком острой фазы воспаления, подобно железу, после чего макромолекула доставляет радиометку в патологические очаги [5]. Вместе с тем, чрезмерное связывание галлия с трансферрином приводит к медленному клиренсу крови и соответственно более длительному периоду накопления в патологическом очаге — до 24–72 ч, что подразумевает необходимость откладывания процедуры сканирования и исключает возможность применения короткоживущего изотопа ^{68}Ga (период полураспада 67,8 мин). Одним из путей решения этой задачи предполагается введение дополнительных химических агентов, которые будут конкурировать с радиоактивным галлием в присоединении к трансферрину крови. Учитывая, что наиболее близким к галлию по константе связывания с транспортными белками и другим физико-химическим свойствам является трехвалентное железо [6], было сделано предположение о возможности использования его физиологически приемлемых соединений (к примеру, цитрата железа (III)) для блокирования металлосвязывающей способности трансферрина крови, как способа коррекции фармакокинетики ^{68}Ga -цитрата.

Исследование камерной модели кинетики транспорта ^{68}Ga -цитрата поможет количественно описать течение процесса *in vivo*, а также правильно и корректно интерпретировать результаты, касающиеся ускорения клиренса крови и накопления в очаге воспаления с дополнительным введением цитрата железа (III).

Материал и методы

Объектами исследования являлись:

- РФП ^{68}Ga -цитрат (0,5 мКи/мл) для визуализации воспалительных процессов методом ПЭТ
- раствор цитрата стабильного железа (III) для блокирования металлосвязывающей способности трансферрина в крови.

Материалом исследования являлись нелинейные крысы-самки разводки питомника «Филиал Андреевка ФГБУН НЦБМТ ФМБА России». Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях при естественном световом режиме на стандартной диете, свободном доступе к воде и пище. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Для моделирования воспаления крысам вводили 0,2 мл стерильного раствора скипидара внутримышечно. Острая фаза воспаления наступала через 3 сут после инокуляции ирританта. Животные были разбиты на две группы по способу внутривенного введения ^{68}Ga -цитрата:

- с цитратом стабильного железа (III);
- без цитрата стабильного железа (III).

Затем животных умерщвляли через определенный интервал времени для отбора проб крови и органов с последующим определением содержания в них препарата (%/орг или %/г органа) методом прямой радиометрии на автоматическом гамма-счетчике Wizard 2480 (PerkinElmer, USA).

Моделирование камерного перехода. Если орган (для математической модели и далее по тексту — камера) является закрытой системой (т.е. РФП не выводится из камеры), то продолжительность его облучения зависит от физического распада радионуклида со скоростью $\lambda_{\text{физ}}$, ч^{-1} . Если камера является открытой системой, то, кроме физического распада, меченый препарат будет подвергаться биологическому выведению путем биотрансформации со скоростью $\lambda_{\text{биол}}$, ч^{-1} . Поэтому общая эффективная скорость выведения, описывающая время, за которое радиоактивность в камере снижается в два раза, равна:

$$\lambda_{\text{эфф}} = \lambda_{\text{физ}} + \lambda_{\text{биол}} \quad (1)$$

На рис. 1 показана простая камерная модель, описывающая кинетику ^{68}Ga -цитрата. Отражены камеры с наиболее видимым накоплением РФП. Модель разбита на шесть камер с эффективными константами скоростей накопления и выведения.

Однако в реальности камерная модель будет на порядок сложнее: отсутствует камера желудка, откуда препарат косвенно попадает в печень, а также очаг воспаления, который может быть локализован в самой печени (например, печеночный абсцесс). Между камерами печени и кишечника находится камера желчного пузыря. Также в реальности необходимо напрямую представить пути накопления—выведения $C \leftrightarrow B$ и $U \leftrightarrow B$.

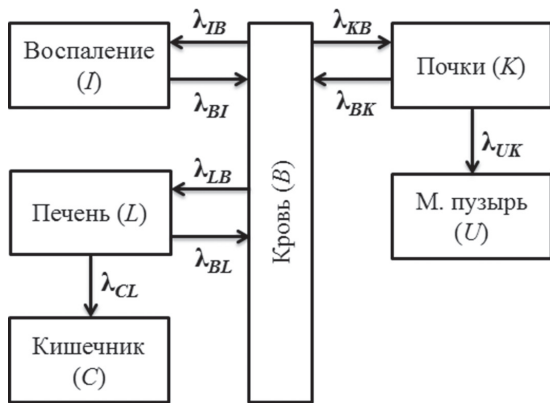


Рис. 1. Камерная модель кинетики транспорта радиофармацевтического препарата ^{68}Ga -цитрат

При внутривенном введении РФП происходит его дальнейшая миграция по камерам, чья кинетика может быть описана дифференциальными уравнениями:

$$\begin{cases} \frac{dI}{dt} = \lambda_{IB}B - \lambda_{BI}I \\ \frac{dL}{dt} = \lambda_{LB}B - (\lambda_{BL} + \lambda_{CL})L \\ \frac{dK}{dt} = \lambda_{KB}B - (\lambda_{BK} + \lambda_{UK})K \\ \frac{dU}{dt} = \lambda_{UK}K \\ \frac{dC}{dt} = \lambda_{CL}L \\ \frac{dB}{dt} = \lambda_{BI}I + \lambda_{BL}L + \lambda_{BK}K - (\lambda_{IB} + \lambda_{LB} + \lambda_{KB})B. \end{cases} \quad (2)$$

Решением представленной системы дифференциальных уравнений является нахождение уравнений показательных функций с эффективными скоростями накопления–выведения. К примеру, на рис. 2 показано «идеализированное» решение первого уравнения – динамика быстрого накопления в очаге воспаления и более медленного экспоненциального выведения препарата из него, причем накопление для данной функции описывается константой скорости λ_{IB} , являясь одновременно одной из констант выведения препарата из крови.

Для объединения точек кривой в единую зависимость использовали метод анализа наименьших квадратов на основе аппроксимации Рунге–Кутты. С этой целью вводился функционал невязки (3), описывающий меру отклонения (4) расчетной характеристики процесса (здесь – искомой функции накопления–выведения от ее экспериментальных значений в заданные моменты времени):

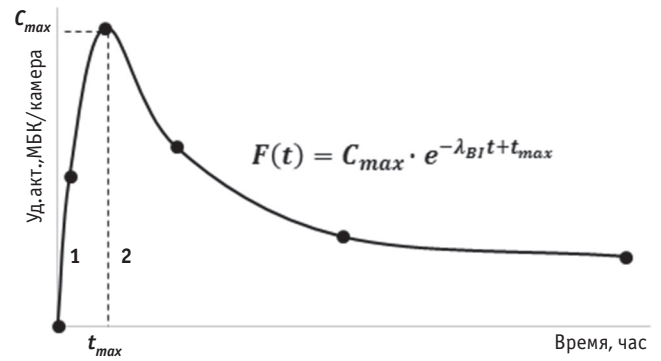


Рис. 2. Пример динамики накопления–выведения радиофармацевтического препарата ^{68}Ga -цитрат для камеры воспаления I

$$\Phi(\vec{X}) = \sum_i [F(t_i) - F_i^e]^2 \quad (3)$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} [\Phi(\vec{X})] = \min, \quad (4)$$

где $F(t_i)$ – функция, описывающая реальное накопление–выведение препарата; F_i^e – аппроксимирующая экспоненциальная функция; формула (4) представляет собой предел, описывающий минимизацию суммы квадратов расстояния между реальной и аппроксимирующей функциями. Иными словами, данный подход должен минимизировать отклонение суммы квадратов расстояний до кривой.

В реальности, за исключением специально заданных тестов, решение такой задачи не может быть найдено с абсолютной точностью, т.к. в процессе поиска решений приходится опираться на численные алгоритмы и методы. Это влечет необходимость применения ЭВМ и, как следствие, арифметических операций. В результате решение задачи может быть получено лишь с точностью величины погрешности численной реализации, формируемой на всех этапах поиска [7].

Из данной модели и решения системы уравнений (2) следует, что лишь экскрецию мочевым пузырем и кишечником можно описать моноэкспонентой, тогда как биологическое поведение других камер описывается полиэкспоненциальными функциями (с несколькими скоростями выведения). Однако в рамках доклинических испытаний РФП для большинства камер используется моноэкспоненциальная функция только выведения (не учитывающая быстрого накопления РФП), что является, несомненно, серьезным упрощающим допущением, но достаточным на таком этапе исследований. Следует отметить, что зачастую быстрое накопление удобно представлять линейной функцией, что значительно упрощает процесс ее последующего интегрирования.

Расчет фармакокинетических параметров. Суммирование значений интегрированных частей (накопления и выведения) функции позволит определить общую площадь под кривой *AUC* (area under curve), физическим смыслом которой является число ядерных распадов (5) в каждой исследуемой камере:

$$AUC = \int_0^{t_{max}} F_1(t)dt + \int_{t_{max}}^{\infty} F_2(t)dt = S + \frac{C_{max}}{\lambda_{BI}}, \quad (5)$$

где $F_1(t)$ – функция быстрой аккумуляции препарата в камере, ограниченной во времени $[0; t_{max}]$; $F_2(t)$ – функция выведения препарата из камеры с константой скорости λ_{BI} ; C_{max} – угловой коэффициент, отражающий максимально возможное накопление препарата (или радиоактивности) в камере; S – площадь, отражающая резидентное время в отрезке быстрого накопления и ограниченная функцией $F_1(t)$.

Клиренс CL (6) отражает элиминацию РФП путем его выведения из камеры или биотрансформации:

$$CL = \frac{IA}{AUC}, \quad (6)$$

где IA – значение введенной активности (injected activity), МБк или КБк.

Чем больше значение клиренса, тем меньше описанная площадь под кривой *AUC* и, как следствие, препарат быстрее покидает ту или иную камеру. Очевидно, что естественное уменьшение числа радиоактивных распадов на единицу массы камеры приводит к получению меньших лучевых нагрузок пациентом.

Зная клиренс крови, можно найти объем биораспределения V_d (7), который показывает, какой объем займет введенный радиофармпрепарат с текущей концентрацией C в исследуемой камере (8): чем ниже концентрация, тем больше объем биораспределения.

$$V_d = \frac{CL}{\lambda_{eff}} \quad (7)$$

$$C = \frac{IA}{V_d} \quad (8)$$

где λ_{eff} – эффективная константа скорости крови, рассчитанная с помощью камерной модели и метода аппроксимации Рунге–Кутта.

Статистическая обработка результатов. При статистической обработке результатов исследования определяли показатели средних арифметических значений (M), стандартных ошибок с учетом отклонения значений выборки от средних арифметических ($\pm m$). Нормальность распределения проверяли с использованием теста Колмогорова–Смирнова. При условии соответствия распределения нормальности достоверность полученных различий сопоставляемых величин оценивали с использованием t -критерия Стьюдента. При несоответствии нормальности распределения достоверность различий оценивали с использованием U -критерия Манна–Уитни. Частоты признаков сравнивались с использованием критерия χ^2 . Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Таблица 1

Значения биологических констант скоростей для камерной модели кинетики транспорта ^{68}Ga -цитрата

Введение ^{68}Ga -цитрата	Значения биологических констант скорости λ , ч^{-1}								
	<i>IB</i>	<i>BI</i>	<i>LB</i>	<i>BL</i>	<i>CL</i>	<i>KB</i>	<i>BK</i>	<i>UK</i>	<i>B</i>
С цитратом железа (III)	5,595*	0,043	0,027	→0	0,013	6,252*	→0	0,028	0,016
Без цитрата железа (III)	3,853*	0,058	0,245	0,044	0,198	7,841*	0,022	→0	0,063

Примечания:

Физическая константа скорости ^{68}Ga $0,613 \text{ ч}^{-1}$

* Резкое накопление в течение 30 мин после введения ^{68}Ga -цитрата

Таблица 2

Значения фармакокинетических параметров для ^{68}Ga -цитрата

Камера	Введение ^{68}Ga -цитрата	Площадь под кривой, кБк/мл · ч	Клиренс, мл/ч	Объем биораспределения, мл	Средняя концентрация, кБк/мл
Кровь <i>B</i>	с цитратом железа (III)	$11,4 \pm 1,5$	$157,3 \pm 18,9$	$250,0 \pm 29,8$	$7,2 \pm 0,9$
	без цитрата железа (III)	$79,4 \pm 9,5$	$22,7 \pm 2,7$	$33,5 \pm 3,9$	$53,7 \pm 6,5$
Очаг воспаления <i>I</i>	с цитратом железа (III)	$279,7 \pm 33,6$	$6,4 \pm 0,9$	$9,8 \pm 1,2$	$183,5 \pm 22,3$
	без цитрата железа (III)	$68,4 \pm 8,3$	$26,3 \pm 3,2$	$39,2 \pm 4,7$	$45,9 \pm 5,5$
Печень <i>L</i>	с цитратом железа (III)	$70,7 \pm 8,4$	$25,4 \pm 3,1$	$41,5 \pm 5,1$	$43,4 \pm 5,2$
	без цитрата железа (III)	$130,3 \pm 14,9$	$13,8 \pm 1,6$	$21,0 \pm 2,7$	$85,7 \pm 10,3$
Почки <i>K</i>	с цитратом железа (III)	$399,9 \pm 45,6$	$4,5 \pm 0,5$	$7,0 \pm 0,7$	$256,4 \pm 30,9$
	без цитрата железа (III)	$1267,6 \pm 98,6$	$1,4 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,3$	$819,2 \pm 94,1$

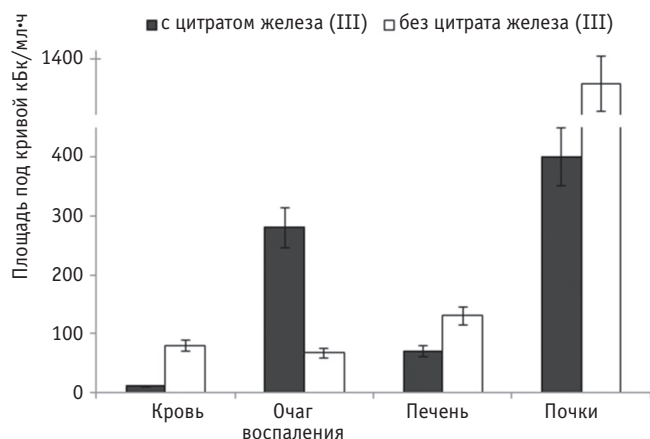


Рис. 3. Сравнение площадей под кривой, описывающих динамику накопления–выведения радиофармацевтического препарата ^{68}Ga -цитрат, для исследуемых камер с/без дополнительного введения цитрата железа (III)

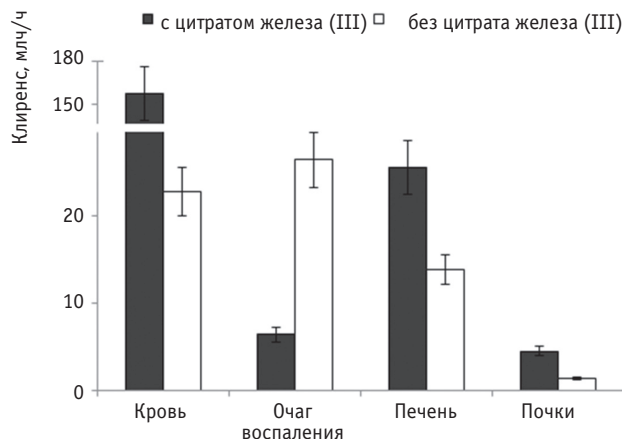


Рис. 4. Сравнение значений клиренса исследуемых камер от радиофармацевтического препарата ^{68}Ga -цитрат с/без дополнительного введения цитрата железа (III)

Результаты и обсуждения

При начальных условиях $B(0)=1$; $I(0)=0$; $L(0)=0$; $K(0)=0$; $C(0)=0$; $U(0)=0$ по экспериментальным данным накопления препарата во времени с помощью решения дифференциальных уравнений идентифицировали значения констант скоростей накопления и выведения для всех исследуемых камер (табл. 1). Следует отметить, что почти любая константа скорости является одновременно для одной камеры константой накопления, а для другой – выведения.

Физическая скорость распада галлия-68 многим больше, чем биологические скорости выведения из камер (табл. 1), что означает более быстрый распад радионуклида по сравнению с его выведением и, как следствие, формирование меньших лучевых нагрузок. Анализ камерной модели кинетики транспорта на основе результатов, представленных в табл. 1, показал, что после внутривенного введения происходит максимально быстрая миграция препарата из крови в очаг воспаления и почки, независимо от способа введения (с/без цитрата железа).

^{68}Ga -цитрат, введенный без цитрата железа (III), стремительно накапливался в печени. Затем около 80 % препарата из печени мигрировало в кишечник и впоследствии экскретировалось из организма, а 20 % попадало обратно в кровь. Определить точную скорость транспорта РФП из почек обратно в кровь достоверно не представилось возможным в силу постоянной фильтрации крови через них, однако скорость аккумуляции ^{68}Ga -цитрата в моче стремилась к нулю, что могло быть следствием чрезмерного связывания галлия с транспортными белками крови и низкой

возможности выведения таких молекул мочевыделительной системой.

Напротив, ^{68}Ga -цитрат, введенный с цитратом железа (III), почти в девять раз медленнее накапливался в печени и в пятнадцать раз медленнее покидал ее через желчные протоки в двенадцатиперстную кишку. Препарат на 45 % активнее аккумулировался в очаге воспаления и на 25 % медленнее выводился из него, что явилось, несомненно, положительным фактором с точки зрения качества визуализации. Более активная экскреция с мочой обусловлена, видимо, выведением галлия-68 в составе низкомолекулярных соединений.

Изменение значений эффективных констант скоростей для ^{68}Ga -цитрата при дополнительном введении цитрата железа (III), несомненно, приводит к изменению фармакокинетических параметров для большинства выделенных в модели камер (табл. 2).

При снижении площади под кривой (рис. 3) прямо пропорционально увеличивался клиренс введенного РФП из камеры (рис. 4). Увеличение клиренса из определенных камер приводит к разбавлению радиоактивности и снижению лучевых нагрузок. Так, клиренс крови от галлия-68 в присутствии цитрата железа (III) увеличился почти в семь раз, напротив, клиренс из камеры воспаления уменьшился в $4,1 \pm 0,5$ раз, что подразумевает возможность достоверной визуализации патологических очагов в течение длительного времени. При дополнительном введении цитрата стабильного железа (III) исследуемый препарат примерно в 2–3 раза быстрее покидает камеры печени и почек (табл. 2).

Таким образом, исследование камерной математической модели кинетики транспорта радиофарма-

цветического препарата ^{68}Ga -цитрат подтвердило, что дополнительное введение цитрата стабильного железа положительно сказывается на изменении процесса накопления–выведения и, как следствие, на изменении фармакокинетических параметров.

Выводы

1. Дополнительное введение цитрата стабильного железа (III) позволило положительно скорректировать кинетику транспорта исследуемого ^{68}Ga -цитрата, согласно созданной камерной математической модели.

2. Измененные фармакокинетические параметры обуславливают значительное снижение лучевых нагрузок на критические органы и ткани.

3. Математические расчеты количественно подтвердили, что дополнительное введение цитрата железа (III) благоприятно сказывается на качестве визуализации воспалительных процессов методом позитронной эмиссионной томографии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Stabin M.G., Siegel J.A.* Physical models and dose factors for use in internal dose assessment. // *Health Phys.*, 2003, **85**, No. 3, P. 294–302.
2. *Клёнов А.Н., Кураченко Ю.А., Левченко В.А., Матусевич Е.С.* Применение методов математического моделирования в ядерной медицине. Под ред. Е.С. Матусевича. – Обнинск, 2006, 204 с.
3. *Доля О.П. (Александрова О.П.), Матусевич Е.С., Кленов А.Н.* Математическое моделирование кинетики транспорта остеотропного радиофармпрепарата в организме пациентов с метастазами в кости. // *Мед. физика*, 2007, № 2, С. 40–50.
4. *Lavender J.P., Lowe J., Barker J.* Gallium 67 citrate scanning in neoplastic and inflammatory lesions. // *Brit. J. Radiol.*, 1971, **44**, P. 361–366.
5. *Hoffer R.* Gallium: mechanisms. // *J. Nucl. Med.*, 1980, **21**, No. 3, P. 282–285.
6. *Harris W.R., Pecoraro V.L.* Thermodynamic binding constants for gallium transferrin. // *Biochem.*, 1983, **22**, P. 292–299.
7. *Денисов А.М.* Введение в теорию обратных задач. – М.: МГУ, 1994, 208 с.

Поступила: 31.07.2015

Принята к публикации: 28.10.2015