

Методические подходы к доклиническому изучению общетоксического действия терапевтических радиофармпрепаратов

О. Е. Клементьева*, А. С. Лунёв, К. А. Лунёва

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственный научный центр Российской Федерации —
Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна» ФМБА России,
Живописная ул., д. 46, Москва, 123098, Российская Федерация

Резюме. Основные отличия радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП) от других лекарственных препаратов заключаются в особой природе их фармакологического действия, реализующегося за счет радиоактивного излучения, а также в отсутствии курсового введения и ничтожно малой концентрации фармацевтической субстанции (10^{-9} – 10^{-12} моль/л). При этом особые требования к проведению доклинических исследований РФЛП в регуляторных документах не описаны. **Цель работы:** обобщение опыта доклинического изучения общетоксического действия радиофармацевтических препаратов терапевтического назначения, накопленного в лаборатории доклинических и клинических исследований радиофармпрепаратов ФГБУ «ГНЦ ФМБЦ имени А.И. Бурназяна» ФМБА России. **Результаты:** рассмотрены критерии выбора дизайна исследования в зависимости от физико-химической природы основного действующего вещества РФЛП; расчета доз и выбора режима дозирования препаратов с различным путем введения; радиационной безопасности для персонала при выполнении исследований. На примере трех радиофармпрепаратов терапевтического назначения представлены методические подходы к доклиническому исследованию их общетоксических свойств. Проанализирован многолетний опыт доклинических исследований радиофармпрепаратов терапевтического назначения, который показал необходимость взвешенного и индивидуального подхода при разработке дизайна доклинических исследований. Предложены методические подходы к доклиническому изучению общетоксических свойств РФЛП терапевтического назначения, позволяющие адекватно оценить возможные токсические эффекты и получить информативные результаты. **Выводы:** существует необходимость разработки методических рекомендаций по проведению доклинических исследований РФЛП терапевтического назначения с учетом особенностей их фармакологического действия и ядерно-физических характеристик радионуклидов.

Ключевые слова: радиофармпрепарат; радионуклидная терапия; доклинические исследования; общетоксическое действие

Для цитирования: Клементьева ОЕ, Лунёв АС, Лунёва КА. Методические подходы к доклиническому изучению общетоксического действия терапевтических радиофармпрепаратов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(4):255–262. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-4-255-262>

* **Контактное лицо:** Клементьева Ольга Евгеньевна; klementyeva.olga@gmail.com

Methodological Approaches to Preclinical Evaluation of General Toxicity of Therapeutic Radiopharmaceuticals

О. Е. Klementyeva*, А. S. Lunev, К. А. Lunyova

State Research Center—Burnasyan Federal Medical Biophysical Center
of Federal Medical Biological Agency,
46 Zhivopisnaya St., Moscow 123098, Russian Federation

Abstract. Radiopharmaceuticals differ from other medicines mainly by the specific nature of their pharmacological action based on radioactivity, by absence of multiple-dose regimens, and by miniscule concentrations of the active pharmaceutical ingredient (10^{-9} – 10^{-12} mol/L). However, the official regulations and standards do not contain specific requirements for preclinical evaluation of radiopharmaceuticals. **The aim of the study** was to summarise preclinical data on general toxicity of therapeutic radiopharmaceuticals, which were obtained by the Laboratory of Preclinical and Clinical Studies of Radiopharmaceuticals of the Federal State Budgetary Institution ‘State Research Center of the Russian Federation—Burnasyan Federal Medical Biophysical Center’ of the Federal Medical Biological Agency. **Results:** the authors analysed criteria for: selection of the study design based on physico-chemical nature of the active pharmaceutical ingredient; calculation of doses and selection of dosage regimens for radiopharmaceuticals with different administration routes; radiation safety for personnel performing the study. The authors used the data on three therapeutic radiopharmaceuticals to formulate methodological approaches to preclinical evaluation of their general toxic properties. The analysis of long-term experience in preclinical studies of therapeutic radiopharmaceuticals demonstrated the need for a judicious individual approach to the development of a preclinical study design. The authors proposed methodological approaches to preclinical evaluation of general toxic properties of therapeutic radiopharmaceuticals, which make it possible to adequately assess potential toxic effects and obtain meaningful study results. **Conclusions:** there is a need for a specific guideline for preclinical studies of therapeutic radiopharmaceuticals, which would take into account specific pharmacological action and nuclear-physical characteristics of radionuclides.

Key words: radiopharmaceutical; radionuclide therapy; preclinical studies; general toxic action

For citation: Klementyeva OE, Lunev AS, Lunyova KA. Methodological approaches to preclinical evaluation of general toxicity of therapeutic radiopharmaceuticals. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(4):255–262. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-4-255-262>

* **Corresponding author:** Olga E. Klementyeva; klementyeva.olga@gmail.com

Радиофармацевтический лекарственный препарат (радиофармпрепарат, РФЛП) представляет собой соединение, состоящее из радионуклида и (или) транспортной молекулы с высокой аффинностью к патологически измененной ткани какого-либо органа. Основным компонентом, отвечающим за фармакологическое действие при радионуклидной терапии (РНТ), является радионуклид, точнее, его излучение. С другой стороны, без транспортной молекулы, которая отвечает за адресную доставку препарата, реализация терапевтического действия невозможна. Исключением являются растворы радионуклидов, обладающих органной специфичностью (например, йодид натрия, ^{131}I , или хлорид радия, ^{223}Ra). Эти особенности РФЛП необходимо учитывать при планировании доклинических исследований, особенно в части изучения безопасности их применения.

В настоящее время единственным действующим руководством, определяющим порядок проведения доклинических исследований РФЛП, остаются Методические указания по доклиническому изучению радиофармацевтических препаратов, являющиеся отдельной главой «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ»¹ под редакцией Р. У. Хабриева, изданные более 15 лет назад, в иных нормативных документах не имеется необходимых специфичных рекомендаций. Однако следует признать, что эти методические указания требуют существенной доработки, так как во многом не соответствуют современным требованиям. В более позднем издании «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств»² под редакцией А. Н. Миронова методология доклинических исследований РФЛП не описана.

В 2016 г. Международное агентство по атомной энергии опубликовало технический документ IAEA-TECDOC-1782 «Good practice for introducing radiopharmaceuticals for clinical use» (Передовая практика внедрения радиофармпрепаратов для клинического применения)³, в котором отмечается, что во многих странах нет ясности и руководящих принципов в отношении правил и положений, регулирующих утверждение и регистрацию РФЛП. Целью публикации цитируемого технического документа является обзор практики проведения доклинических исследований в разных странах для обоснования рекомендаций по проведению клинических исследований новых РФЛП, качество, безопасность и эффективность которых уже проверены и установлены в других странах. В документе

подробно изложены пути решения проблем производства, контроля качества и организации клинических исследований РФЛП. Однако о проблемах доклинических исследований в этом документе не упомянуто.

Недостаточность нормативной базы для проведения доклинических исследований РФЛП отмечена в публикации S. Sandeep и соавт. [1]. Авторами показано, что даже в рекомендациях Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным препаратам для человека⁴ нет вспомогательной литературы по доклиническим исследованиям РФЛП, что вызывает необходимость разработки отдельных руководств для проведения доклинических исследований диагностических и терапевтических РФЛП.

В июне 2019 г. завершено обсуждение руководства Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) по доклиническим исследованиям РФЛП⁵. В документе подчеркивается, что необходимость в руководстве по доклиническим исследованиям РФЛП возникла в связи с отсутствием подробных инструкций, однако в настоящий момент окончательный вариант документа еще не утвержден.

Таким образом, разработка практических рекомендаций по проведению доклинических исследований РФЛП является актуальной задачей. В качестве решения предлагается обобщить многолетний практический опыт ведущих исследовательских центров и дополнить уже существующие руководства по доклиническим исследованиям нерадиоактивных лекарственных препаратов.

Цель работы — обобщение опыта доклинического изучения общетоксического действия радиофармацевтических препаратов терапевтического назначения, накопленного в лаборатории доклинических и клинических исследований радиофармпрепаратов ФГБУ «ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна» ФМБА России.

ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ РАДИОФАРМПРЕПАРАТОВ

РФЛП терапевтического назначения (РФЛП для РНТ) — это препарат, содержащий радионуклид (бета-, альфа-излучатель — радионуклид, распад которого сопровождается электронным захватом или внутренней конверсией электронов), который является основным действующим веществом, обеспечивающим терапевтическую дозу излучения непосредственно в органе-мишени.

¹ Хабриев Р.У., ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд. М.: Медицина; 2005.

² Миронов А.Н., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

³ Good practice for introducing radiopharmaceuticals for clinical use. Vienna: IAEA, 2016.

⁴ ICH S4 Duration of chronic toxicity testing in animals (rodent and non-rodent toxicity testing).

ICH S9 Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals.

⁵ EMA/CHMP/SWP/686140/2018 Guideline on the non-clinical requirements for radiopharmaceuticals.

В отличие от диагностических, РФЛП для РНТ обладают фармакологическим действием, что фактически делает их «истинно» лекарственными препаратами. С другой стороны, природа фармакологического действия РФЛП зачастую определяется не химическими свойствами векторной молекулы, а ионизирующим излучением, возникающим при распаде входящего в его состав радионуклида. РФЛП терапевтического назначения могут быть введены локально, что не приводит к их распределению в организме. Эти особенности необходимо учитывать при проведении доклинических исследований.

ВЫБОР ДИЗАЙНА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ РАДИОФАРМПРЕПАРАТОВ

Объем и методы доклинического исследования безопасности применения РФЛП для РНТ являются предметом дискуссий экспертов на протяжении не одного десятилетия. В руководстве⁶ Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA), подготовленном рабочей группой по отдаленной радиационной токсичности, в которую входят представители Центра экспертизы и исследования лекарственных средств (Center for Drug Evaluation and Research, CDER), обсуждается вопрос предпочтительного исследования острой токсичности и отсроченных радиационных эффектов. На основании собственного опыта полагаем, что необходимым является комплексное исследование, т.е. дизайн исследования должен отражать как острые состояния (возникающие в течение первых нескольких недель после облучения), так и отсроченные радиационные эффекты. Однако далее в рекомендациях по продолжительности исследования приводится весьма спорное утверждение, не подтвержденное ни одной ссылкой на источник информации, в котором оно было бы обосновано. Согласно цитируемому документу⁷, токсические эффекты не наблюдаются клинически в поздние сроки после проведения лучевой терапии, по крайней мере, от нескольких месяцев до года. У животных поздняя радиационная токсичность обычно проявляется в более короткие сроки, чем у людей. Например, в документе утверждается (без ссылок на источники информации), что латентный период лучевого нефрита у крыс составляет от 3 до 7 мес. У собак нарушение функции почек наблюдается к 10 мес. Следовательно, чтобы получить адекватную оценку частоты специфических

побочных эффектов, животных следует контролировать на предмет поздней радиационной токсичности не менее 1 года после введения РФЛП.

По нашему мнению, с учетом невозможности дифференциации симптомов поздней радиационной токсичности, обусловленных однократным воздействием РФЛП терапевтического назначения, с некоторыми признаками старения организма логичнее использовать значительно более короткий срок наблюдения за животными (от 30 до 90 суток после введения препарата).

Единственное, на что имеется указание во всех документах и не вызывает никаких сомнений, это утверждение о том, что при планировании исследований общетоксического действия РФЛП для РНТ следует учитывать ядерно-физические характеристики радионуклида, состав препарата, его назначение, путь введения и кратность клинического применения. Кроме того, всегда следует иметь в виду, что любой РФЛП изготавливается, контролируется, дозируется и применяется в условиях специализированных учреждений и недоступен пациенту для приобретения в аптечной сети.

Традиционный дизайн изучения общетоксического действия лекарственных средств подробно описан в руководстве по проведению доклинических исследований⁸ и руководстве по доклиническим исследованиям безопасности, утвержденном решением коллегии Евразийской экономической комиссии⁹. Он включает изучение таких токсикологических характеристик, как острая и хроническая токсичность, а также эффект кумуляции. Общие принципы исследований и перечень контролируемых параметров РФЛП терапевтического назначения не отличаются от принятых в традиционном дизайне. Однако существует ряд особенностей данной группы препаратов, которые требуют индивидуального рассмотрения при планировании доклинических исследований.

Перед проведением исследования общетоксического действия РФЛП терапевтического назначения следует соотнести информацию, которая может быть получена в исследовании, с планируемым клиническим применением препарата. Так, изучение острой токсичности нерадиоактивной формы РФЛП¹⁰ позволяет получить информацию о диапазоне безопасных количеств транспортной молекулы и вспомогательных веществ. Изучение хронической токсичности нерадиоактивной формы РФЛП с введенным в транспортную молекулу нерадиоактивным изотопом не дает исчерпывающей информации

⁶ Nonclinical evaluation of late radiation toxicity of therapeutic radiopharmaceuticals. Guidance for industry. U.S. Department of Health and Human Services, FDA, CDER; 2011.

⁷ Там же.

⁸ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

⁹ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26 ноября 2019 г. № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

¹⁰ Нерадиоактивная форма РФЛП — модельная лекарственная форма радиофармпрепарата, в которой при полностью идентичном составе радиоактивный нуклид заменен на свой стабильный изотоп.

о безопасности готовой лекарственной формы, поскольку в этих исследованиях не изучается действие фактора, отвечающего за реализацию терапевтического действия препарата, а именно ионизирующего излучения, испускаемого радионуклидом, входящим в состав РФЛП. Более того, токсикологическое исследование с использованием формы РФЛП, в которой радиоактивный нуклид заменен на стабильный, не всегда представляется возможным, поскольку у ряда радионуклидов терапевтического назначения либо нет стабильных изотопов, либо они недоступны по коммерческим причинам. Кроме того, синтез такой формы РФЛП и подтверждение ее полного соответствия готовой лекарственной форме требуют применения специальных методов контроля качества, поскольку весовые количества изотопа находятся за пределами обнаружения рутинно применяющихся методов анализа.

Изучение хронической токсичности готовой лекарственной формы РФЛП может дать информацию о возможных отдаленных последствиях воздействия препарата на организм и обратимости вызываемых повреждений. В руководстве¹¹ указано, что хроническая токсичность изучается при длительном введении исследуемого препарата. В то же время длительность его введения при доклиническом исследовании зависит от предполагаемой длительности введения в клинической практике. Большинство пациентов получают РФЛП для РНТ единожды в жизни, следовательно, при разработке РФЛП предполагается его однократное применение в клинической практике, вследствие чего отсутствует необходимость длительного (повторного или многократного) введения препарата для изучения его кумуляции при проведении доклинических исследований.

Хроническую токсичность при системном применении исследуют в двух-трех дозах¹². При выборе максимальной дозы руководствуются результатами исследования острой токсичности, минимальная доза должна быть близка к предполагаемой терапевтической дозе, рекомендованной для клинического изучения. При исследовании острой токсичности нерадиоактивной формы препарата зачастую не предполагается возможным достижение ЛД₅₀ (средней летальной дозы для соответствующего вида животных). В таком случае определяется максимальная безопасная доза (МБД) — доза, при которой отсутствует летальность во всех группах животных. В пересчете ЛД₅₀ или МБД на готовую (радиоактивную) форму препарата максимальная доза для исследования хронической токсичности окажется не только сверхвысокой, но и недостижимой

для синтеза. При выборе максимальной дозы РФЛП для РНТ целесообразно руководствоваться такой кратностью терапевтической дозы, которая будет безопасна для персонала лаборатории и достижима по суммарной активности при синтезе.

Вне зависимости от того, является ли РФЛП оригинальным или воспроизведенным, следует учитывать путь введения препарата, рекомендованный для клинического применения, возможность и предел эскалации изучаемых доз, характер распределения РФЛП в организме, обусловленный рекомендованным путем введения. Так, в ряде случаев препарат должен быть введен локально и только одним способом, не имеющим альтернативы, например внутрисуставно, внутриопухолево или в единичный кровеносный сосуд с целью его эмболизации. Уникальные пути введения имеют лимит по максимально возможному объему введения. При этом инвазивность таких способов введения, как внутрисуставный или в единичный кровеносный сосуд с целью его эмболизации, не допускает повторных манипуляций с животным для реализации многократного введения. Рекомендованные для клинического применения дозы в эквивалентном пересчете на лабораторное животное зачастую столь велики, что дальнейшая их эскалация в эксперименте становится небезопасной для персонала. В приведенных ниже примерах будут подробнее рассмотрены особенности исследования реальных РФЛП, повлиявшие на методические подходы к выполнению доклинических исследований общетоксического действия.

В руководстве¹³ приведен стандартный минимальный перечень органов и тканей, подлежащих гистологическому исследованию, включающий более 30 позиций. Будет ли точное следование этой рекомендации при доклиническом исследовании РФЛП научно обоснованным? В единичных случаях да, но в большинстве случаев нет. Более того, анализ всех образцов, подлежащих гистологическому исследованию по этому перечню, довольно трудозатратен и экономически не обоснован. Фармакокинетические исследования радиоактивного вещества позволяют узнать долю аккумуляции РФЛП практически в любом органе лабораторного животного. Именно эта информация и должна быть отправной точкой при определении перечня органов и тканей, подлежащих гистопатологическому исследованию.

ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Опыт доклинического исследования безопасности РФЛП «Золерен, ¹⁸⁸Re», предназначенного

¹¹ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

¹² Там же.

¹³ Руководство по проведению доклинических исследований токсичности при повторном (многократном) введении действующих веществ лекарственных препаратов для медицинского применения. Приложение к Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии от 21.05.2020 № 10.

для системного введения при паллиативной терапии костных метастазов, показал следующее. В том случае, когда готовая лекарственная форма РФЛП изготавливается из раствора радиофармацевтического предшественника (в данном случае элюат генератора $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$) и нерадиоактивного компонента, разрешенного для медицинского применения (в данном случае лиофилизата, содержащего золедроновую кислоту), необходим и достаточен объем исследований общетоксического действия, включающий острую токсичность раствора нерадиоактивного компонента и хроническую токсичность готовой лекарственной формы РФЛП. Расчет вводимых доз для лабораторных животных был выполнен исходя из предполагаемой терапевтической дозы активности рения-188: 45–49 МБк/кг (1,2–1,3 мКи/кг) и основного вещества (золедроновая кислота) — 4,0 мг на инъекцию [2]. Исследование воздействия эквивалентной терапевтической дозы препарата «Золерен, ^{188}Re » на кроветворную систему лабораторных животных показало снижение гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов у животных экспериментальной группы на 5 сут после введения с последующим восстановлением всех показателей к 30 сут наблюдения. Токсикологическая оценка лиофилизата для приготовления «Золерен, ^{188}Re » показала отсутствие токсических изменений в организме крыс при исследовании острой токсичности препарата в двадцатикратной терапевтической дозе (6 мг/кг) и при исследовании хронической токсичности препарата в двукратной дозе (0,6 мг/кг) [3]. По результатам доклинических исследований было получено разрешение на проведение клинических исследований, в первой фазе которых подтверждена безопасность введения препарата в дозе 55 МБк/кг массы тела пациентов с раком простаты и молочной железы [4].

К РФЛП терапевтического назначения, для которых невозможно доклиническое исследование острой токсичности нерадиоактивной формы, следует отнести препараты на основе радия-223, стронция-89, астата-211. Считается нецелесообразным изучение острой токсичности РФЛП, представляющих собой раствор радионуклида в ионной форме. Обоснованием такого утверждения могут служить следующие соображения: если исследуется раствор РФЛП после «выдержки на распад», то фактически будет исследован изотонический раствор хлорида натрия с микроколичествами изотопов, являющихся конечными в цепочке радиоактивного распада исходного радионуклида. Если исследуется готовая лекарственная форма РФЛП, то для достижения даже LD_{10} потребуется введение опасных для персонала доз радиоактивного препарата. Полученные результаты априори не будут

информативны. Так, при внутривенном введении в организм лабораторных крыс стронция-89 в дозе 185 МБк/кг 100% гибель животных наступит в течение 30 сут после введения препарата [5]. В эквивалентном пересчете на массу тела человека по формуле, представленной в руководстве¹⁴, доза составит 29,6 МБк/кг (или 1776 МБк на среднего взрослого человека). Применяемая в клинической практике однократная доза РФЛП «Стронция хлорид, ^{89}Sr » составляет 150 МБк, что практически в 12 раз меньше. Таким образом, при исследовании острой токсичности препарата либо были бы использованы заведомо неинформативные дозы, либо опасные для животных и персонала, но не дающие значимой клинической информации. Оба варианта противоречат концепции 3R (reduction, refinement, replacement) норм биоэтики. Значительно более информативным для оценки общетоксического действия РФЛП является изучение отдаленных радиационных повреждений, которые в случае выявления были бы отражены в инструкции по медицинскому применению.

РФЛП для РНТ воспалительных заболеваний суставов (радиосиноэктомии) представляют собой суспензии микрочастиц, содержащих бета-излучающий радионуклид. В ходе доклинических исследований хронической токсичности препарата «Синорен, ^{188}Re », учитывая локальный (внутриуставной) способ введения исследуемого РФЛП и практически полное отсутствие его распределения в организме, для исследования безопасности был определен путь введения, полностью соответствующий рекомендованному для клинического применения, т.е. внутрисуставно. Такой подход был обоснован тем, что многократное введение в данном исследовании выполнить невозможно, поскольку объем жидкости, который может быть введен в суставную сумку, лимитирован. Повторное введение РФЛП в различные суставы исказит полученные результаты из-за неравномерности формирования дозовых нагрузок от рения-188, действие бета-излучения которого является для данного РФЛП основным фактором, который может приводить к возникновению нежелательных отдаленных реакций организма. Хроническая токсичность при внутрисуставном введении РФЛП была оценена с использованием двух дозировок: терапевтической дозы для человека и пятикратной дозы с эквивалентным пересчетом на лабораторных животных. Были использованы два вида животных — крысы (грызуны) и кролики (негрызуны). Продолжительность исследования составила 30 сут. По результатам исследования получено подтверждение безопасности применения изученного РФЛП, заключающееся в отсутствии повреждающего действия на организм животных.

¹⁴ Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. Guidance for industry. Rockville: FDA; 2005.

Одним из альтернативных способов локального лучевого воздействия на опухоли печени является трансартериальная радиоэмболизация (ТАРЭ). Этот метод, основанный на совмещении эмболизации (закупорки сосудов) с лучевой терапией, применяется в мире с 2002 г. Процедура выполняется путем введения в печеночную артерию мелких частиц (микросфер), меченных различными бета-излучающими радионуклидами. Как и в предыдущем случае, РФЛП данного назначения вводят в организм только одним специфичным способом, а именно непосредственно в артерию печени.

Исходя из природы РФЛП для ТАРЭ на основе микросфер и способа их введения, возникает ряд особенностей их доклинического исследования. Наиболее важные из них — это выбор пути введения при токсикологических исследованиях, поскольку системное введение такого рода препаратов невозможно, и особенности приготовления индивидуальных доз, предназначенных для введения животным.

При проведении доклинических исследований с целью исключения ложных результатов, вызванных возможной смертностью животных вследствие высокой травматичности процедуры внутриартериального введения, в исследовании острой и хронической токсичности можно использовать максимально приближенный к несистемному внутриартериальному введению способ — однократное введение препарата непосредственно в паренхиму печени путем прокола брюшной стенки под контролем УЗИ. Поскольку основным потенциально опасным фактором для таких РФЛП

является локальное воздействие бета-излучения на здоровую ткань печени, многократное введение с использованием указанного пути введения приведет к образованию нескольких локусов аккумуляции РФЛП и, соответственно, неравномерному облучению критического органа, что может спровоцировать возникновение как ложноотрицательных, так и ложноположительных результатов.

Именно такой путь введения был использован в ходе доклинических исследований РФЛП «ДТПА-МСА, ⁹⁰Y», разработанного совместно в АО «Государственный научный центр Российской Федерации — Физико-энергетический институт имени А. И. Лейпунского» и Медицинском радиологическом научном центре им. А. Ф. Цыба. В данном исследовании, помимо ограничений по кратности введения, возникло еще одно обстоятельство, лимитирующее возможность следованию стандартному дизайну. Предполагаемая терапевтическая доза активности для клинического применения готовой лекарственной формы РФЛП составляет 3,0 ГБк на массу тела взрослого человека, что примерно соответствует 42,9 МБк/кг. Следовательно, эквивалентная терапевтическая доза (ЭД) исследуемого препарата на одну крысу составляет 48,9 МБк, а на одного кролика — 248,3 МБк. Поскольку только исследование готовой лекарственной формы РФЛП отражает вероятность нежелательных явлений, обусловленных действием радиоактивного излучения на критические органы и ткани, исключить такое исследование из дизайна не представляется возможным. Исследование дозировок, меньших ЭД

Таблица 1. Результаты расчета доз, предназначенных для токсикологических исследований РФЛП, эквивалентных дозам, предполагаемым для клинического применения (на примере препарата «ДТПА-МСА, ⁹⁰Y»)

Table 1. Calculation of doses for toxicology studies of radiopharmaceuticals, which are equivalent to proposed clinical doses (using the example of DTPA-MSA, ⁹⁰Y)

Человек Human	Лабораторные животные (на одну особь) Laboratory animals (per one animal)	
	Крыса Rat	Кролик Rabbit
Доза РФЛП — 3 ГБк Объем — 5–15 мл Объемная активность 0,2–5 ГБк/мл (200–5000 МБк/мл) Dose—3 GBq Volume—5–15 mL Volumetric activity— 0.2–5 GBq/mL (200–5000 MBq/mL)	Объем — 0,05 мл ЭД ~50 МБк Требуемая объемная активность препарата — 1000 МБк/мл ЭД10 ~500 МБк Требуемая объемная активность препарата — 10 000 МБк/мл Volume—0.05 mL ED ~ 50 MBq Required volumetric activity—1000 MBq/mL ED10 ~ 500 MBq Required volumetric activity—10000 MBq/mL	Объем — 0,1 мл ЭД ~250 МБк Требуемая объемная активность препарата — 2500 МБк/мл ЭД10 ~2500 МБк Требуемая объемная активность препарата — 25 000 МБк/мл Volume—0.1 mL ED ~ 250 MBq Required volumetric activity—2500 MBq/mL ED10 ~ 2500 MBq Required volumetric activity—25000 MBq/mL

Примечание. ЭД — эквивалентная доза, рассчитанная по формуле эквивалентного переноса с человека на лабораторное животное; РФЛП — радиофармацевтический лекарственный препарат.

Note. ED—equivalent dose calculated according to the formula for conversion of human doses to animal equivalent doses.

¹⁵ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

Хабриев РУ, ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд. М.: Медицина; 2005.

или незначительно превышающих ЭД, нецелесообразно, так как не представляет дополнительной ценности для прогнозирования клинической безопасности. В то же время исследование дозировок, превышающих указанные, невозможно по соображениям радиационной безопасности для персонала. Примерные значения эквивалентных доз, рассчитанных согласно рекомендациям руководств¹⁵, и требуемых объемных активностей для исследований субхронической токсичности терапевтического РФЛП приведены в таблице 1.

Как следует из приведенных расчетов, для доклинического исследования общетоксического действия РФЛП в дозах, кратно превышающих ЭД, не всегда возможно технологически получить препарат с требуемой объемной активностью. При введении РФЛП животным в дозах, равных ЭД, а тем более кратно ее превышающих, возникают значительные дозовые нагрузки на персонал.

В целях предупреждения сверхнормативного облучения персонала лаборатории было принято решение о проведении исследования хронической токсичности готовой лекарственной формы РФЛП с использованием только средней терапевтической дозы для человека с эквивалентным пересчетом на лабораторных животных. В экспериментах по исследованию хронической токсичности РФЛП с иттрием-90 для внутриартериальной радиоэмболизации неоперабельных пациентов с первичными и метастатическими опухолями печени «ДТПА-МСА, ⁹⁰Y» не было отмечено каких-либо симптомов интоксикации. Изменения гематологических и биохимических показателей у животных экспериментальных и контрольных групп отсутствовали либо были незначительны и имели обратимый характер [6].

Суммируя многолетний опыт доклинических исследований РФЛП терапевтического назначения, мы предлагаем следующие методические подходы к доклиническому изучению их общетоксического действия, представленные в таблице 2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ нормативных и методических документов, регламентирующих выполнение доклинических исследований лекарственных средств, показал отсутствие рекомендаций по изучению общетоксического действия радиофармацевтических лекарственных препаратов терапевтического назначения. Руководствоваться требованиями к доклиническому изучению нерадиоактивных лекарственных препаратов не всегда представляется возможным и целесообразным при исследовании безопасности применения терапевтических радиофармпрепаратов.

Систематизация собственного многолетнего опыта позволила предложить методические подходы к доклиническому изучению общетоксических свойств терапевтических радиофармпрепаратов, позволяющие адекватно оценить возможные токсические эффекты и получить информативные результаты. Существует необходимость разработки методических рекомендаций по проведению доклинических исследований радиофармпрепаратов терапевтического назначения с учетом особенностей их фармакологического действия и ядерно-физических характеристик радионуклидов. При расчете доз и выборе режима дозирования необходимо принимать во внимание предполагаемый способ введения препарата при клиническом применении и правила радиационной безопасности для персонала при выполнении исследований.

Таблица 2. Объем исследований общетоксических свойств РФЛП терапевтического назначения

Table 2. Scope of evaluation of general toxic properties of therapeutic radiopharmaceuticals

Характеристика готовой лекарственной формы РФЛП Radiopharmaceutical product characteristics	Острая токсичность Acute toxicity	Хроническая токсичность Chronic toxicity
Раствор радионуклида в ионной форме Radionuclide solution in ionic form	Не требуется Not required	Однократное введение эквивалентной терапевтической дозы препарата в готовой лекарственной форме. Дозы, кратные эквивалентной, исследуют при возможности соблюдения радиационной безопасности для персонала и технологической возможности изготовления. Используют путь введения, рекомендованный для клинического применения, с последующим наблюдением в течение 30 сут*
<p>Препараты, распределяющиеся в организме при попадании в системный кровоток Radiopharmaceuticals with systemic distribution in the body</p> <p>Препараты для локального введения без распределения в организме Radiopharmaceuticals for local administration, without systemic distribution in the body</p>	Нерадиоактивные растворы реагентов для приготовления РФЛП или модельный раствор РФЛП со стабильным изотопом Non-radioactive solutions of reagents for the preparation of a radiopharmaceutical, or a model solution of a radiopharmaceutical with a stable isotope	Single administration of a finished pharmaceutical product at an equivalent therapeutic dose. Doses that are multiples of the equivalent dose are investigated if it is possible to comply with radiation safety requirements for personnel, and if manufacturing is technically feasible. Use the route of administration recommended for clinical use, followed by a 30-day follow-up*

Примечание. РФЛП — радиофармацевтический лекарственный препарат.

* Срок наблюдения может быть увеличен исходя из периода полураспада радионуклида и эффективного периода полувыведения РФЛП.

* The follow-up period can be increased based on the radionuclide half-life and the radiopharmaceutical effective half-life.

Вклад авторов. *О. Е. Клементьева* — разработка концепции работы, анализ нормативных документов, интерпретация результатов и методологии проведенных исследований, написание текста рукописи; *А. С. Лунёв* — участие в проведении экспериментов, критический пересмотр содержания статьи, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; *К. А. Лунёва* — участие в проведении экспериментов, редактирование текста, критический пересмотр содержания статьи.

Authors' contributions. *Olga E. Klementyeva*—elaboration of the study concept, analysis of regulations, interpretation of the study results and methodology, writing of the text; *Alexandr S. Lunev*—participation in experimental work, revision of the text, approval of the final version of the paper for publication; *Kristina A. Lunyova*—participation in experimental work, editing and revision of the text.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Благодарности. Работа проведена в рамках выполнения государственного задания Федерального медико-биологического агентства России (номер государственного учета НИР АААА-А18-118042390081-7).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project and was supported by the Federal Medical Biological Agency of Russia (R&D public accounting No. АААА-А18-118042390081-7).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sharma S, Baldi A, Sharma RK. Radiopharmaceuticals regulations on bioavailability and bioequivalence: present status and future requirements. *Mod Appl Bioequiv Availab.* 2017;1(4):555567. <https://doi.org/10.19080/MABB.2017.01.555567>
2. Волознев ЛВ, Клементьева ОЕ, Корсунский ВН, Лысенко НП. Доклиническая оценка токсичности радиофармацевтического препарата ¹⁸⁸Re-золедроновая кислота. *Ветеринарная медицина.* 2013;1(2):45–7. [Voloznev LV, Klementyeva OE, Korsunsky VN, Lysenko NP. Preclinical toxicity assessment of the radiopharmaceutical ¹⁸⁸Re-zoledronic acid. *Veterinarnaya meditsina = Veterinary Medicine.* 2013;1(2):45–7 (In Russ.)]
3. Волознев ЛВ, Лысенко НП, Перова НВ. Токсикологическая оценка лиофилизата для приготовления радиофармацевтического препарата ¹⁸⁸Re-Золедроновая кислота. *Прикладная токсикология.* 2013;4(1):17–24. [Voloznev LV, Lysenko NP, Perova NV. The toxicological estimation of lyophilisate for preparing of radiopharmaceutical ¹⁸⁸Re-Zoledronic acid. *Prikladnaya toksikologiya = Applied Toxicology.* 2013;4(1):17–24 (In Russ.)]
4. Лиепе К, Лимурис Г, Крылов ВВ, Кочетова ТЮ. Радионуклидная терапия препаратами ¹⁸⁸Re в онкологии. *Онкологический журнал.* 2018;1(4):34–42. [Liepe K, Lymouris G, Krylov VV, Kochetova TYu. Nuclear therapy with ¹⁸⁸Re based radiopharmaceuticals in oncology. *Onkologicheskii zhurnal = Journal of Oncology.* 2018;1(4):34–42 (In Russ.)]
5. Калистратова ВС, ред. *Радиобиология инкорпорированных радионуклидов.* М.: ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; 2012. [Kalistratova VS, ed. *Radiobiology of incorporated radionuclides.* Moscow: Burnasyan FMBC of Russia; 2012 (In Russ.)]
6. Клементьева ОЕ, Власова ОП, Степченков ДВ, Лунёва КА, Терновская КЭ, Петриев ВМ и др. Результаты доклинических исследований безопасности радиофармпрепарата с ⁹⁰Y для внутриартериальной радиоэмболизации злокачественных новообразований печени. *Медицинская радиология и радиационная безопасность.* 2020;(5):51–9. [Klementyeva OE, Vlasova OP, Stepchenkov DV, Luneva KA, Ternovskaya KE, Petriev VM, et al. Results of preclinical safety tests of radiopharmaceutical with ⁹⁰Y for intra-arterial radioembolization of liver cancer. *Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost' = Medical Radiology and Radiation Safety.* 2020;(5):51–9 (In Russ.)] <https://doi.org/10.12737/1024-6177-2020-65-5-51-59>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Клементьева Ольга Евгеньевна, канд. биол. наук. *Olga E. Klementyeva*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6604-0860>
Лунёв Александр Сергеевич, канд. биол. наук. *Alexander S. Lunev*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8392-8343>
Лунёва Кристина Андреевна. *Christina A. Lunyova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-1256-9873>

Статья поступила 12.08.2021
После доработки 22.09.2021
Принята к печати 13.12.2021

Article was received 12 August 2021
Revised 22 September 2021
Accepted for publication 13 December 2021

АКТУАЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Компания группы Института стволовых клеток человека (ИСКЧ) — Центр «Genetico» и лаборатория «Сербалаб» создали и разместили в открытом доступе **первую российскую открытую базу данных генетических вариантов** (полиморфизмов, мутаций) и их встречаемости в российской популяции. RUSeq — проект по объединению генетической информации между клиническими лабораториями и геномными центрами России. База данных основана на статистической обработке результатов секвенирования более 6 тыс. образцов ДНК человека. В состав объединенной выборки вошли как пациенты с подозрением на наследственное заболевание, так и здоровые доноры. В базу данных вошло более 500 тыс. ранее не описанных вариантов. Наличие таких баз необходимо для корректной интерпретации результатов секвенирования ДНК в медицинских целях: для поиска возможных причин наследственных заболеваний у пациентов и при постановке диагноза.

Публикуется по: М. Иванюк. «Genetico» и «Сербалаб» опубликовали первую российскую открытую базу данных генетических вариантов. *Медвестник* от 9 ноября 2021 г.