

DOI: 10.21870/0131-3878-2025-34-1-115-127

УДК 539.163:546.59-092.9

Расчётно-экспериментальная оценка поглощённой дозы при фотон-захватной терапии с наночастицами золота на лабораторных животных с опухолевыми моделями

Финогенова Ю.А.¹, Скрибицкий В.А.^{1,2,3}, Липенгольц А.А.^{1,2,3}, Шпакова К.Е.^{1,2,3},
Смирнова А.В.^{1,4}, Касьянов А.А.², Созаев И.В.², Климентов С.М.^{2,5}, Григорьева Е.Ю.¹

¹ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

² ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва;

³ ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва;

⁴ ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова ДЗМ», Москва;

⁵ ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых», Владимир

Фотон-захватная терапия (ФЗТ) – метод лучевой терапии, основанный на взаимодействии дозоповышающего агента с внешним рентгеновским излучением. Перспективным дозоповышающим агентом являются наночастицы золота. Цель работы – по данным компьютерной томографии лабораторных мышей с опухолевыми моделями определить максимальную концентрацию золота в опухолевой ткани, достигаемую после внутривенного введения наночастиц, и рассчитать соответствующий фактор повышения дозы (ФПД), а также исследовать концентрацию золота в здоровых тканях и оценить риск их повреждения при облучении. Использованы мыши с подкожными сингенными опухолями: меланома В16F10 (n=5); аденокарцинома Са755 (n=5); ЕМТ6 (n=5); 4Т1 (n=5). Лазерно-аблированные наночастицы золота с диаметром 8,3 нм вводили мышам внутривенно в дозировке 1000 мг Au/кг веса тела. Компьютерную томографию выполняли до введения наночастиц, затем сразу после инъекции и через 1, 4, 24, 48 ч, 5 сут. Используя линейную калибровочную зависимость, по увеличению рентгеноплотности ткани рассчитывали концентрацию золота в ней. Локальное увеличение поглощённой дозы оценивали, используя аналитическую зависимость ФПД от концентрации наночастиц золота для рентгеновских лучей с максимальной энергией 140 кВ. Для 4 исследованных опухолевых моделей определена максимальная концентрация золота в опухоли. Расчётный ФПД составлял от $1,3 \pm 0,2$ для меланомы В16F10 до $1,6 \pm 0,2$ для аденокарциномы 4Т1. В течение 48 ч также отмечалась высокая концентрация золота в крови (ФПД для стенки сердца от $1,5 \pm 0,2$) и в ткани печени (ФПД от $1,4 \pm 0,1$). Аденокарцинома 4Т1 является оптимальной опухолевой моделью для дальнейших исследований ФЗТ *in vivo*. Высокая концентрация золота в камерах сердца и в ткани печени ограничивают применение ФЗТ для опухолей лёгких, средостения и брюшной полости. Наиболее вероятно применение ФЗТ для лечения опухолей головного мозга и конечностей.

Ключевые слова: наночастицы золота, лазерно-аблированные наночастицы, фактор повышения дозы, лучевая терапия, компьютерная томография, опухолевые модели, подкожные опухоли, сингенные опухоли, меланома, аденокарцинома, мыши, радиобиология.

Введение

Фотон-захватная терапия (ФЗТ) – перспективный метод бинарной лучевой терапии, основанный на локальном увеличении поглощённой дозы от внешнего рентгеновского излучения в присутствии дозоповышающих агентов (ДПА) [1, 2]. В качестве ДПА при ФЗТ может выступать любой элемент с высоким зарядом ядра атома ($Z > 52$). Препарат, содержащий ДПА, предварительно накапливается в опухолевой ткани и при проведении лучевой терапии взаимодействует с внешним рентгеновским излучением ортовольтного диапазона преимущественно по механизму фотоэффекта. При этом образуются электроны фотопоглощения и сопутствующего Оже-каскада, что приводит к

Финогенова Ю.А.* – науч. сотр.; Скрибицкий В.А. – м.н.с.; Липенгольц А.А. – в.н.с., к.ф.-м.н.; Шпакова К.Е. – лаб.-исследователь; Смирнова А.В. – с.н.с., к.б.н.; Григорьева Е.Ю. – зав. лаб., д.б.н. НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России. Касьянов А.А. – аспирант; Созаев И.В. – инженер; Климентов С.М. – зам. директора, к.ф.-м.н. НИЯУ МИФИ.

*Контакты: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24. Тел.: +7(915)418-99-23; e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru.

поражению клеток опухоли вторичным короткопробежным излучением. Таким образом, распределение поглощённой дозы при ФЗТ определяется распределением ДПА в объёме опухоли.

Клинические испытания ФЗТ опухолей головного мозга начались в 1990-х гг. [3]. Долгое время в качестве препаратов для ФЗТ использовали рентгеноконтрастные средства, содержащие атомы йода ($Z=53$), однако результативность технологии оставалась умеренной. Новая эра ФЗТ открылась с разработкой и активным внедрением металлсодержащих наночастиц: было показано, что их применение в сочетании с внешним рентгеновским излучением обеспечивает высокую противоопухолевую эффективность [4]. Два препарата на основе наночастиц в настоящее время успешно проходят клинические испытания: гафний-содержащий NBTXR3 [5] и гадолиний-содержащий AGuiX [6].

ФЗТ с наночастицами золота (НЧЗ) в настоящее время находится на стадии исследований на лабораторных животных. Перспективность данного направления обусловлена высоким зарядом атомного ядра золота ($Z=79$). В многочисленных экспериментах *in vivo* НЧЗ продемонстрировали биосовместимость, низкую токсичность и способность усиливать торможение роста опухоли при лучевой терапии [7]. При этом НЧЗ удобны в экспериментальной работе: для них существуют технологичные методы синтеза, позволяющие получать частицы необходимого размера и формы. Поверхность НЧЗ можно модифицировать с помощью различных лигандов, в том числе для создания таргетных препаратов, тропных к опухолевым рецепторам или маркерам. Поэтому можно с уверенностью утверждать, что продолжение исследований *in vivo* откроет для НЧЗ перспективу трансляции в клиническую онкологию.

Для планирования облучения при исследованиях противоопухолевого действия ФЗТ на лабораторных животных необходимо учитывать данные о содержании ДПА в опухолевой ткани на момент облучения. Эту информацию можно получить с помощью компьютерной томографии (КТ), т.к. КТ и ФЗТ основаны на аналогичных физических принципах: более интенсивном поглощении рентгеновского излучения элементами с более высоким Z . Возможность количественного определения ДПА с помощью КТ обоснована тем, что зависимость увеличения рентгеноплотности участка КТ-изображения от концентрации ДПА в нём носит линейный характер [8].

Количественное определение содержания ДПА позволяет прогнозировать терапевтическую эффективность ФЗТ с помощью расчётного параметра – фактора повышения дозы (ФПД). ФПД – это отношение значений поглощённой дозы в объекте в присутствии и в отсутствии ДПА для одних и тех же параметров внешнего облучения:

$$\text{ФПД} = \frac{D_{\text{ДПА}}(C)}{D_0} \quad (1)$$

где $D_{\text{ДПА}}(C)$ – поглощённая доза в мишени, содержащей C мг/мл ДПА; D_0 – поглощённая доза в такой же мишени, не содержащей ДПА, облучённой тем же рентгеновским пучком.

Целью данной работы была количественная оценка накопления НЧЗ в сингенных солидных опухолях мышей методом КТ с последующим расчётом ФПД в условиях однократного облучения рентгеновским пучком ортовольтного диапазона (140 кВ). Для оценки вероятности повреждения здоровых тканей так же были определены ФПД для сердца и сосудов, печени и селезёнки.

Материалы и методы

Наночастицы золота. НЧЗ были получены с помощью одностадийного метода фемто-секундной лазерной абляции в 1 мМ растворе NaCl. В процессе синтеза использовали лазер Yb (длина волны 1030 нм, длительность импульса 250 фс, энергия импульса 30 мкДж, частота следования импульсов 100 кГц). Полученные НЧЗ покрывали полимером mPEG-SH 2 кДа (Sigma

Aldrich) по оригинальной методике. Средний размер и концентрацию наночастиц определяли с помощью спектрофотометра Cary 50 (Varian, Австралия) по описанной ранее методике [9]. По данным спектрофотометрических измерений размер золотого ядра частиц составлял $8,3 \pm 0,6$ нм, концентрация золота в коллоидном растворе – 110 ± 15 мг/мл.

Метод количественного определения золота. Для построения калибровочной зависимости выполняли КТ-сканирование пробирок, содержащих коллоидные растворы НЧЗ с известной концентрацией в диапазоне от 1 до 25 мг/мл. С помощью программы rmod (Pmod Technologies Inc) определяли рентгеноплотность содержимого каждой пробирки (НУ) и вычитали из неё рентгеноплотность чистой воды (НУ). Зависимость повышения рентгеноплотности Δ НУ от концентрации золота аппроксимировали прямой линией.

Мыши с опухолевой моделью. Все исследования проводили в соответствии с правовыми и этическими нормами работы с лабораторными животными и были согласованы с комиссией по биоэтике Научно-исследовательского института экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (протокол № 01с/р-2024).

Для создания опухолевой модели мышам подкожно в область голени правой задней лапы вводили приготовленную *ex tempore* суспензию опухолевых клеток 1:6 (m:V) в растворе Хэнкса в объёме 60 мкл. В исследовании использованы:

- мыши линии C57Bl6 с подкожной меланомой B16F10 (n=5);
- мыши линии C57Bl6 с подкожной аденокарциномой Ca755 (n=5);
- мыши линии Balb/C с подкожной аденокарциномой EMT6 (n=5);
- мыши линии Balb/C с подкожной аденокарциномой 4T1 (n=5).

Масса всех мышей составляла от 20 до 22 г на момент введения препарата НЧЗ.

Компьютерная томография животных. Перед введением препарата НЧЗ проводили КТ всего тела мышей с помощью томографа VECTor6 (MiLabs, Нидерланды) в режиме Accurate. Используя программу rmod, определяли нативную рентгеноплотность сердца, печени, селезёнки, опухолевого узла и мускулатуры контралатеральной (здоровой) лапы. Затем мышам вводили внутривенно НЧЗ в дозировке 1000 мг Au/кг веса тела, что соответствует 20-22 мг Au на одно животное (в зависимости от веса мыши). Повторное КТ-сканирование проводили сразу после инъекции, затем через 1, 4, 24, 48 ч, 5 сут. На всех полученных томограммах определяли среднюю рентгеноплотность опухолевого узла. Для дальнейших количественных расчётов брали временную точку, на которую увеличение рентгеноплотности опухолевого узла было максимальным. На выбранной томограмме определяли рентгеноплотность камер сердца, мускулатуры здоровой лапы, печени, селезёнки, стромального и паренхиматозного компонента опухоли. Из полученных значений вычитали нативную рентгеноплотность соответствующих тканей, таким образом, получали данные о повышении рентгеноплотности за счёт НЧЗ.

Расчёт фактора повышения дозы. Используя уравнение калибровочной прямой и данные о повышении рентгеноплотности, вычисляли концентрацию золота в целевых тканях: крови (по камерам сердца), здоровой мускулатуре, печени, селезёнке, опухолевой строме и паренхиме, опухоли в целом. Для всех перечисленных тканей определяли расчётный ФПД, используя калибровочную прямую (формула (2)). Данная зависимость получена путём аппроксимации графических данных зависимости ФПД от концентрации золота для источника рентгеновского излучения 140 кВ, приведённых в статье [10].

$$\text{ФПД} = 0,126 [Au] + 1,003. \quad (2)$$

Результаты

На первом этапе работы по данным фантомных исследований была построена калибровочная прямая, связывающая изменение рентгеноплотности ΔHU с концентрацией золота (рис. 1). Уравнение полученной прямой:

$$\Delta HU = 46,361 [Au] + 9,886. \quad (3)$$

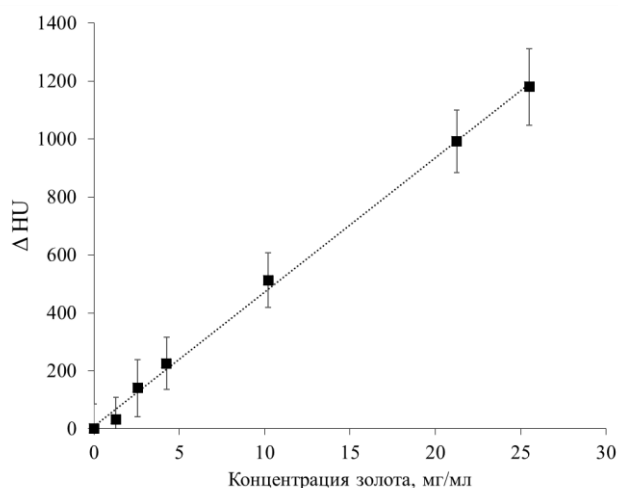


Рис. 1. Зависимость изменения рентгеноплотности (ΔHU) от концентрации золота.

В ходе исследований *in vivo* были проанализированы КТ-изображения 12 мышей с 4 различными опухолевыми моделями после внутривенного введения НЧЗ. Концентрация золота в крови, рассчитанная по изменению рентгеноплотности содержимого камер сердца, оценивалась как $12,1 \pm 1,8$ мг/мл сразу после инъекции; впоследствии она постепенно снижалась (рис. 2). Расчётный ФПД для стенки сосудов составил $1,7 \pm 0,2$ через 24 ч после инъекции и $1,5 \pm 0,2$ через 48 ч (табл. 1). Через 5 сут рентгеноплотность камер сердца возвращалась к нативной, т.е. наночастицы выводились за пределы кровеносного русла (преимущественно за счёт перераспределения в пользу печени). Период полувыведения НЧЗ из кровотока был оценен как ~ 24 ч.

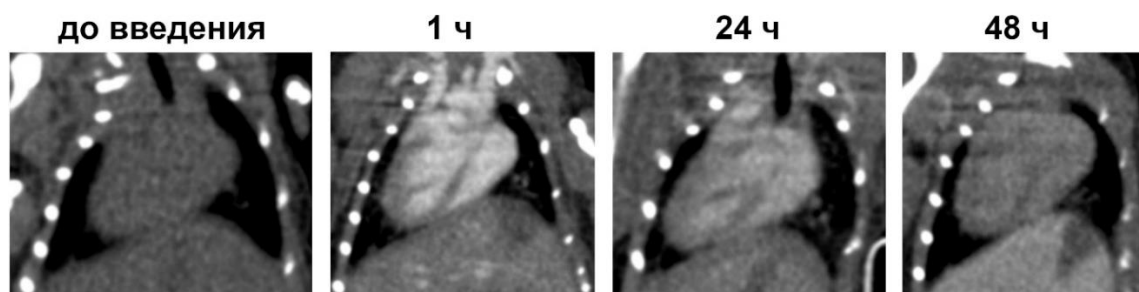


Рис. 2. КТ лабораторной мыши, корональный срез области сердца: до введения НЧЗ, через 1, 24 и 48 ч после инъекции.

В печени наночастицы накапливались со временем: от $2,8 \pm 0,7$ мг/см³ через 1 ч после инъекции до $5,4 \pm 1,9$ мг/см³ через 5 сут (рис. 3). Расчётный ФПД для печени составил $1,4 \pm 0,1$ через 24 ч после инъекции и $1,5 \pm 0,2$ через 48 ч. Активное накопление наночастиц наблюдали так же и в селезёнке (табл. 1).

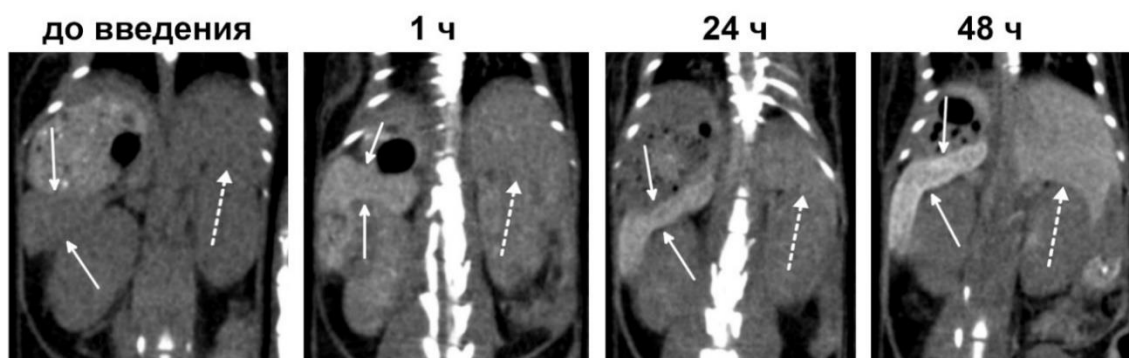


Рис. 3. КТ лабораторной мыши, корональный срез абдоминальной области: до введения НЧЗ, через 1, 24 и 48 ч после инъекции. Сплошные стрелки указывают на селезёнку, пунктирная – нижний край печени.

Таблица 1

Концентрация золота и расчётный ФПД для внутренних органов мыши

	Время после инъекции			
	1 ч	24 ч	48 ч	5 сут
Концентрация золота в крови (по камере сердца), мг/мл	11,6±1,1	5,4±0,7	3,6±0,6	0,2±0,2
Концентрация золота в ткани печени, мг/см ³	2,8±0,7	3,0±0,6	3,7±0,9	5,4±1,9
Концентрация золота в ткани селезёнки, мг/см ³	3,4±0,3	4,4±0,9	5,8±1,4	7,4±1,7
ФПД для стенок сердца и сосудов	2,5±0,3	1,7±0,2	1,5±0,2	1,02±0,02
ФПД для печени	1,4±0,1	1,4±0,1	1,5±0,1	1,7±0,2
ФПД для селезёнки	1,4±0,1	1,6±0,1	1,7±0,2	1,9±0,2

Здоровая мускулатура контралатеральной конечности не демонстрировала активного накопления наночастиц. В интервале времени от внутривенной инъекции до 24 ч концентрация золота не превышала 0,3 мг/см³, расчётный ФПД не превышал 1,04. Через 48 ч рентгеноплотность здоровой мускулатуры окончательно возвращалась к нативной.

Всем мышам были подкожно привиты на заднюю правую конечность сингенные опухоли. На момент начала эксперимента размер опухолей составлял от 8×5×5 до 11×7×8 мм. Компоненты структуры опухоли отчётливо различались по данным КТ, так как стромальный компонент присутствовал в виде псевдокапсулы, а также в виде сравнительно тонких прослоек между узлами роста опухоли (рис. 4). Соотношение стромы и паренхимы различалось в зависимости от опухолевой модели: наибольшее количество соединительнотканых прослоек отмечалось в структуре аденокарциномы Ca755, наименьшее – в структуре меланомы B16F10, промежуточное – в структуре опухолей 4T1 и EMT6. Для всех опухолей было характерно более интенсивное накопление золота в стромальном, а не паренхиматозном компоненте.

Данные о накоплении НЧЗ в модельных опухолях представлены в табл. 2. Указана концентрация золота в строме опухоли, в паренхиме, и средняя концентрация по объёму опухолевого узла, а также соответствующий ФПД. Наиболее интенсивное накопление НЧЗ из исследованных моделей демонстрировала аденокарцинома 4T1. Максимальная средняя концентрация золота в опухолевом узле достигалась через 24 ч после внутривенной инъекции и составляла 4,7±0,6 мг/см³.

Расчётный ФПД составил $1,4 \pm 0,2$ для опухолевой паренхимы, $2,4 \pm 0,3$ для стромы, $1,6 \pm 0,2$ для опухоли в целом. Наименее активное накопление НЧЗ наблюдали в меланоме B16F10. Наибольшая средняя концентрация золота в опухоли – $2,4 \pm 0,4$ мг/см³ – отмечалась через 48 ч после введения. Расчётный ФПД составил $1,1 \pm 0,2$ для опухолевой паренхимы, $2,3 \pm 0,2$ для стромы, $1,3 \pm 0,2$ для опухоли в целом. Опухоли EMT6 и Ca755 демонстрировали промежуточный уровень накопления НЧЗ (в среднем $3,8 \pm 0,6$ и $3,2 \pm 0,5$ мг/см³ соответственно), расчётный ФПД составлял $1,5 \pm 0,2$ и $1,4 \pm 0,2$ соответственно.

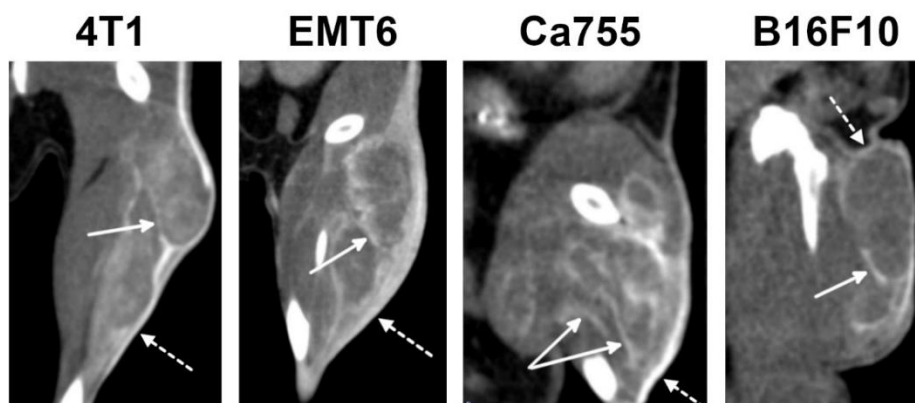


Рис. 4. КТ лабораторной мыши после внутривенного введения НЧЗ, корональный срез области опухоли. Временная точка соответствует максимальному накоплению НЧЗ в объёме опухоли: для 4Т1 и EMT6 – через 24 ч после инъекции, для Ca755 и B16F10 – через 48 ч после инъекции. Стрелками указаны элементы стромального компонента опухоли: сплошными стрелками – прослойки соединительной ткани между узлами роста опухоли, пунктиром – псевдокапсула.

Таблица 2

Концентрация золота в строме и паренхиме модельных подкожных опухолей на момент максимального накопления наночастиц, и соответствующий расчётный ФПД

	Опухолевая модель			
	4Т1	EMT6	Ca755	B16F10
Время максимального накопления, ч	24	24	48	48
Концентрация золота в строме опухоли, мг/см ³	$11,3 \pm 1,2$	$10,4 \pm 1,1$	$17,9 \pm 2,3$	$9,9 \pm 1,1$
Концентрация золота в паренхиме опухоли, мг/см ³	$3,3 \pm 0,4$	$2,3 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,1$
Средняя концентрация золота в опухоли, мг/см ³	$4,7 \pm 0,6$	$3,8 \pm 0,6$	$3,2 \pm 0,5$	$2,4 \pm 0,4$
ФПД для стромы опухоли	$2,4 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,3$	$3,3 \pm 0,4$	$2,3 \pm 0,2$
ФПД для паренхимы опухоли	$1,4 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,2$
ФПД для опухоли в целом	$1,6 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,2$

Через 5 сут после инъекции, по сравнению с 2 сут, для всех опухолей отмечали существенное снижение рентгеноплотности паренхимы, но не стромы. Строма демонстрировала длительное удержание наночастиц без признаков «вымывания» (рис. 5).

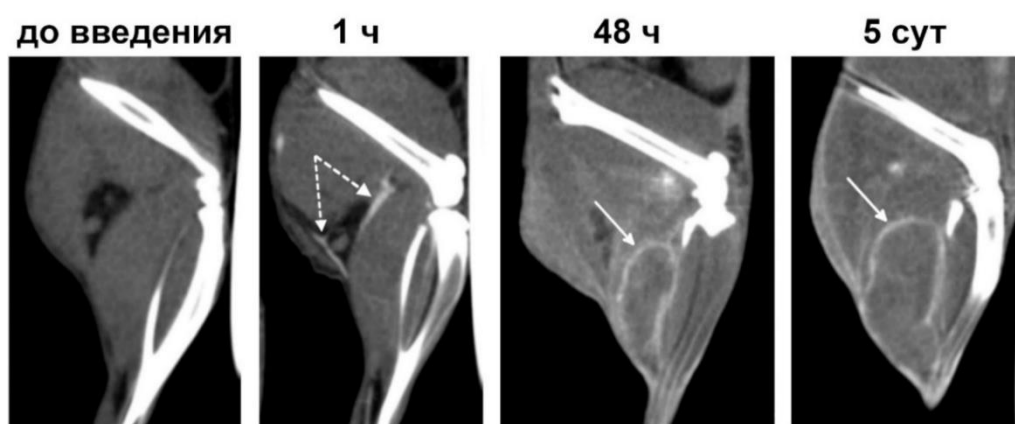


Рис. 5. КТ лабораторной мыши с подкожной опухолью ЕМТ6, сагиттальный срез области опухоли: до введения НЧЗ, через 1, 48 ч и 5 сут после инъекции. Пунктирными стрелками указаны кровеносные сосуды, сплошными стрелками – элементы стромального компонента опухоли (прослойки соединительной ткани между узлами роста опухоли).

Обсуждение

На примере четырёх опухолевых моделей в данной работе было расчётно-экспериментально оценено локальное увеличение поглощённой дозы при взаимодействии внешнего рентгеновского излучения (140 кВ) с НЧЗ. Показано, что при проведении ФЗТ с НЧЗ можно достичь ФПД от $1,3 \pm 0,2$ (для модели В16F10) до $1,6 \pm 0,2$ (для модели 4Т1).

В работе [11] показано, что при однократном облучении подкожной меланомы В16F10 в дозе 11 Гр время до трёхкратного увеличения объёма опухоли составило $12,2 \pm 1,10$ сут, а при облучении в дозе 15 Гр – $13,3 \pm 0,60$ сут. То есть увеличение поглощённой дозы от внешнего облучения в 1,36 раза привело к задержке роста опухоли на 1 сут. На основании этих данных можно предположить, что повышение поглощённой дозы за счёт присутствия ДПА в объёме опухоли будет малозначимо с точки зрения терапевтического эффекта для данной модели.

Для модели Са755 расчётный ФПД составил $1,4 \pm 0,2$, т.е. при облучении в дозе 10 Гр фактическая средняя доза в объёме опухоли достигнет 14 ± 2 Гр. В работе [12] показано, что при увеличении поглощённой дозы с 10 до 15 Гр торможение роста аденокарциномы Са755 увеличилось с 67 до 86%. Поэтому и увеличение поглощённой дозы при облучении в присутствии ДПА, предположительно, приведёт к заметному угнетению роста опухоли.

В данной работе количественную оценку содержания золота в опухолевой ткани проводили методом КТ. В большинстве опубликованных работ подобные исследования проводят методами *ex vivo*, для чего опухолевый узел извлекают из организма животного, растворяют в ходе пробоподготовки, а затем оценивают концентрацию химического элемента в полученном образце с помощью масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-MS) или атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-AES). Эти методы позволяют получить представление о средней концентрации золота в исследуемой ткани. Преимуществом КТ является возможность визуализации гетерогенного распределения ДПА в объёме опухоли. Недостатком КТ по сравнению с ICP-MS или ICP-AES является относительно низкая чувствительность, однако в области концентраций, необходимых для ФЗТ, чувствительность КТ вполне достаточна.

Обнаруженная в данном исследовании гетерогенность распределения НЧЗ объясняется присутствием в солидной опухоли двух компонентов: паренхимы и стромы. Паренхима представлена собственно опухолевыми клетками. Строма состоит из соединительной ткани, в ней проходят питающие опухоль кровеносные сосуды [13]. В ходе исследования КТ проводили несколько раз, для последующей количественной оценки выбирали точку максимального накопления НЧЗ. Для опухолей 4Т1 и ЕМТ6 эта точка соответствовала 24 ч после внутривенной инъекции НЧЗ, а для Са755 и В16F10 – 48 ч. При этом с помощью КТ было показано, что в указанные временные точки в строме опухоли содержится существенно больше золота, чем в паренхиме. Поэтому при планировании терапевтического облучения в этом временном диапазоне существенный вклад в замедление роста опухоли вносит не только гибель собственно опухолевых клеток, но также повреждение опухолевых сосудов и опухоль-ассоциированных макрофагов [14]. Несмотря на то, что строма составляет относительно небольшой объем опухоли, известно, что увеличение дозы даже в небольшом объеме может привести к существенному торможению опухолевого роста вследствие запуска не только физических, но и радиобиологических механизмов [15].

Чтобы обеспечить максимальную противоопухолевую эффективность ФЗТ, терапевтическое облучение должно быть проведено во время наибольшего содержания ДПА в опухолевой ткани. На данный момент не существует какого-либо общепринятого протокола исследований ФЗТ с наночастицами, и вопрос оптимального временного интервала от инъекции до облучения решается каждой группой исследователей отдельно в каждом конкретном случае. Существует подход «раннего облучения» в срок до 1 ч после инъекции, до начала интенсивного накопления наночастиц в опухоли, когда они ещё не успели выйти за пределы кровеносного русла. В частности, группа Hainfeld J.F. и соавт. проводили облучение мышей с ЕМТ6 через 2 мин после внутривенной инъекции и получили впечатляющие результаты [16]. В исследовании [17] НЧЗ вводили за 30 мин до облучения аденокарциномы Са755, у 4 мышей из 6 наступила полная регрессия опухоли. В обеих упомянутых работах высокая концентрация золота в крови подтверждалась рентгенологическим методом. Вероятно, положительный результат терапии в этом случае объясняется повреждением питающих опухоль сосудов.

Тем не менее, наиболее популярным вариантом является проведение терапевтического облучения через 24 ч после внутривенной инъекции НЧЗ [18, 19]. При сравнении подходов более позднее облучение приводит к лучшим результатам. Например, в работе [20] одной группе мышей с подкожной опухолью HeLa проводили терапевтическое облучение через 30 мин после введения НЧЗ, а другой – через 4 ч, во втором случае торможение роста опухоли было более выраженным. Эти данные подтверждают, что оптимальным вариантом является проведение облучения в момент содержания наибольшего количества ДПА в опухоли, а не в крови. При проведении дополнительных исследований в данной области, в том числе с расширением спектра опухолевых линий, целесообразно использование КТ для определения временной точки максимального накопления ДПА в опухолевом узле.

В результате проведённого исследования были также получены данные о концентрации золота во внутренних органах животного на момент предполагаемого облучения. В течение 48 ч после инъекции сохраняется высокая концентрация золота в крови, что может привести к ФПД до $1,5 \pm 0,2$ при облучении сердца. Для печени уже через 1 ч после инъекции ФПД составляет

1,4±0,1, и далее до 5 сут ФПД возрастает. Таким образом, возможность проведения ФЗТ при лечении опухолей лёгких, средостения и брюшной полости ограничена вероятностью лучевых повреждений жизненно важных органов. Наиболее перспективным выглядит применение ФЗТ для лечения опухолей головного мозга и конечностей. Именно для этих локализаций в настоящее время проводятся клинические испытания лучевой терапии с металлсодержащими наночастицами [5, 6].

Заключение

В результате исследования динамики накопления НЧЗ в различных модельных опухолях было выявлено, что максимум содержания золота достигался через 24 ч (4Т1, ЕМТ6) или через 48 ч после инъекции (Са755, В16F10). При этом НЧЗ преимущественно накапливались в стромальном компоненте опухоли: псевдокапсуле и соединительнотканых прослойках. Интенсивность накопления золота в различных модельных опухолях варьировала. Для аденокарциномы Са755 средняя концентрация золота в объёме опухоли достигала 3,2±0,5 мг/см³, а соответствующий расчётный ФПД составил 1,4±0,2, что позволяет прогнозировать значимое торможение роста опухоли при терапевтическом облучении. В связи с высоким расчётным ФПД для сердца и печени, наиболее вероятно применение ФЗТ при лечении злокачественных новообразований головного мозга и конечностей.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 24-25-00446, <https://rscf.ru/project/24-25-00446/>.

Литература

1. **Шейно И.Н., Ижевский П.В., Липенгольц А.А., Кулаков В.Н., Вагнер А.Р., Сухих Е.С., Варлачев В.А.** Разработка бинарных технологий лучевой терапии злокачественных новообразований: состояние и проблемы //Бюллетень сибирской медицины. 2017. Т. 16, № 3. С. 192-209.
2. **Lipengolts A.A., Skribitsky V.A., Finogenova Y.A., Shulyak A.T., Abakumov M.A., Bykov A.Y., Grigorieva E.Y., Smirnova A.V., Shpakova K.E., Zhizhin K.Y.** Hafnium complexes as contrast media and dose enhancing agents for radiology and contrast-enhanced radiotherapy //Biophysics. 2024. V. 69, N 1. P. 148-155.
3. **Rose J.H., Norman A., Ingram M., Aoki C., Solberg T., Mesa A.** First radiotherapy of human metastatic brain tumors delivered by a computerized tomography scanner (CTRx) //Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1999. V. 45, N 5. P 1127-1132.
4. **Финогенова Ю.А., Липенгольц А.А., Скрибицкий В.А., Шпакова К.Е., Смирнова А.В., Скрибицкая А.В., Сычева Н.Н., Григорьева Е.Ю.** Металлсодержащие наноразмерные радиосенсибилизаторы для лучевой терапии злокачественных новообразований //Медицинская физика. 2023. № 3. С. 70-86.
5. **Skrodzki D., Molinaro M., Brown R., Moitra P., Pan D.** Synthesis and bioapplication of emerging nano-materials of hafnium //ACS Nano. 2024. V. 18, N 2. P. 1289-1324.
6. **Thivat E., Casile M., Moreau J., Molnar I., Dufort S., Seddik K., Le Duc G., De Beaumont O., Loeffler M., Durando X., Biau J.** Phase I/II study testing the combination of AGuIX nanoparticles with radiochemotherapy and concomitant temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma (NANO-GBM trial protocol) //BMC Cancer. 2023. V. 23, N 1. P. 344. DOI: 10.1186/s12885-023-10829-y.
7. **Gerken L.R., Gerdes M.E., Pruschy M., Herrmann I.K.** Prospects of nanoparticle-based radioenhancement for radiotherapy //Mater. Horiz. 2023. V. 10. P. 4059-4082.
8. **Hainfeld J.F., O'Connor M.J., Dilmanian F.A., Slatkin D.N., Adams D.J., Smilowitz H.M.** Micro-CT enables microlocalisation and quantification of Her2-targeted gold nanoparticles within tumour regions //Br. J. Radiol. 2011. V. 84, N 1002. P. 526-533.
9. **Skribitsky V.A., Pozdniakova N.V., Lipengolts A.A., Popov A.A., Tikhonowski G.V., Finogenova Y.A., Smirnova A.V., Grigorieva E.Y.** A spectrophotometric method for estimation of the size and concentration of laser ablated gold nanoparticles //Biophysics. 2022. V. 67, N 1. P. 22-26.
10. **Roeske J.C., Nunez L., Hoggarth M., Labay E., Weichselbaum R.R.** Characterization of the theoretical radiation dose enhancement from nanoparticles //Technol. Cancer Res. Treat. 2007. V. 6, N 5. P. 395-401.
11. **Duval K.E.A., Aulwes E., Zhang R., Rahman M., Ashraf M.R., Sloop A., Sunnerberg J., Williams B.B., Cao X., Bruza P., Kheirollah A., Tavakkoli A., Jarvis L.A., Schaner P.E., Swartz H.M., Gladstone D.J., Pogue B.W., Hoopes P.J.** Comparison of tumor control and skin damage in a mouse model after ultra-high dose rate irradiation and conventional irradiation //Radiat. Res. 2023. V. 200, N 3. P. 223-231.
12. **Липенгольц А.А., Черепанов А.А., Первова В.В., Кулаков В.Н., Григорьева Е.Ю., Шейно И.Н.** Аденокарцинома молочной железы Ca755 в качестве модели опухоли в экспериментальной лучевой терапии //Медицинская физика. 2016. № 4. С. 80-83.
13. **Ельникова А.А.** Микроокружение опухоли – тёмная лошадка в противоопухолевой химиотерапии //Здоровье и образование в XXI веке. 2015. Т. 17, № 1. С. 84-86.
14. **Богданова И.М., Болтовская М.Н., Рахмилевич А.Л., Артемьева К.А.** Ключевая роль опухоль-ассоциированных макрофагов в прогрессировании и метастазировании опухолей //Иммунология. 2019. Т. 40, № 4. С. 41-47.
15. **Липенгольц А.А., Воробьева Е.С., Черепанов А.А., Абакумов М.А., Абакумова Т.О., Смирнова А.В., Финогенова Ю.А., Григорьева Е.Ю., Шейно И.Н., Кулаков В.Н.** Исследование распределения поглощённой дозы при фотон-захватной терапии с интратуморальным введением дозоповышающего агента в меланоме В16F10 //Вестник Российского государственного медицинского университета. 2018. № 5. С. 70-75.

16. Hainfeld J.F., Slatkin D.N., Smilowitz H.M. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice //Phys. Med. Biol. 2004. V. 49, N 18. P. N309-N315.
17. Skribitsky V.A., Finogenova Y.A., Lipengolts A.A., Pozdniakova N.V., Smirnova A.V., Shpakova K.E., Grigorieva E.Y. In vivo studies of laser-ablated gold nanoparticles as dose enhancers for binary radiotherapy of cancer //Phys. At. Nuclei. 2022. V. 85, N 9. P. 1598-1602.
18. Nosrati H., Seidi F., Hosseinmirzaei A., Mousazadeh N., Mohammadi A., Ghaffarlou M., Danafar H., Conde J., Sharafi A. Prodrug polymeric nanoconjugates encapsulating gold nanoparticles for enhanced X-ray radiation therapy in breast cancer //Adv. Healthc. Mater. 2022. V. 11, N 3. P. e2102321. DOI: 10.1002/adhm.202102321.
19. Yang C., Gao Y., Fan Y., Cao L., Li J., Ge Y., Tu W., Liu Y., Cao X., Shi X. Dual-mode endogenous and exogenous sensitization of tumor radiotherapy through antifouling dendrimer-entrapped gold nanoparticles //Theranostics. 2021. V. 11, N 4. P. 1721-1731.
20. Dou Y., Guo Y., Li X., Li X., Wang S., Wang L., Lv G., Zhang X., Wang H., Gong X., Chang J. Size-tuning ionization to optimize gold nanoparticles for simultaneous enhanced CT imaging and radiotherapy //ACS Nano. 2016. V. 10, N 2. P. 2536-2548.

Computational and experimental evaluation of absorbed doses in gold nanoparticles mediated contrast enhanced radiotherapy for tumor-bearing laboratory animals

Finogenova Yu.A.¹, Skribitsky V.A.^{1,2,3}, Lipengolts A.A.^{1,2,3}, Shpakova K.E.^{1,2,3},
Smirnova A.V.^{1,4}, Kasianov A.A.², Sozaev I.V.², Klimentov S.M.^{2,5}, Grigorieva E.Yu.¹

¹ Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the RF, Moscow;

² National Research Nuclear University MEPhI, Moscow;

³ Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow;

⁴ The Loginov Moscow Clinical Scientific Center of Moscow Health Department, Moscow;

⁵ Vladimir State University named after Alexander and Nikolay Stoletovs, Vladimir

Contrast-enhanced radiotherapy (CERT) is a method of radiation therapy based on the interaction of a dose-enhancing agent with external X-ray radiation. Gold nanoparticles are a promising dose-enhancing agent. The aim of the work is to determine the maximum concentration of gold and corresponding dose enhancement factor (DEF) in healthy organs and tumor node after intravenous injection of nanoparticles to tumor-bearing mice, according to computed tomography data. Mice with subcutaneous syngeneic tumors were used for the study: melanoma B16F10 (n=5); adenocarcinoma Ca755 (n=5); EMT6 (n=5); 4T1 (n=5). Laser-ablated gold nanoparticles with a diameter of 8.3 nm were injected intravenously to mice at a dosage of 1000 mg Au/kg body weight. computed tomography scans were acquired before nanoparticle injection, then immediately after injection and after 1, 4, 24, 48 h and 5 days. Using a linear calibration relationship, the increase in tissue radiodensity was recalculated into the concentration of gold. The local increase in the absorbed dose was estimated using the analytical dependence of DEF on the concentration of gold nanoparticles for X-rays with a maximum energy of 140 kV. The maximum concentration of gold in the tumor was determined for 4 tumor models. The calculated DEF ranged from 1.3±0.2 for B16F10 melanoma to 1.6±0.2 for 4T1 adenocarcinoma. At 48 h after injection, there were also high concentrations of gold in blood (DEF for heart wall from 1.5±0.2) and in liver tissue (DEF from 1.4±0.1). 4T1 adenocarcinoma is an optimal tumor model for further in vivo studies of CERT. High concentration of gold in heart chambers and in liver tissue limits the application of CERT for lung, mediastinal and abdominal tumors. CERT is most applicable for tumors of brain and extremities.

Key words: *gold nanoparticles, laser-ablated nanoparticles, dose enhancement factor, radiotherapy, computed tomography, tumor models, subcutaneous tumors, syngeneic tumors, melanoma, adenocarcinoma, mice, radiobiology.*

Finogenova Yu.A.* – Researcher; Skribitsky V.A. – Jun. Researcher; Lipengolts A.A. – Lead. Researcher, C. Sc., Phys.-Math.; Shpakova K.E. – Lab. Assistant; Smirnova A.V. – Sen. Researcher, C. Sc., Biol.; Grigorieva E.Yu. – Head of Lab., D. Sc., Biol. N.N. Blokhin NMRCO. Kasianov A.A. – Post. Student; Sozaev I.V. – Engineer; Klimentov S.M. – Deputy Director, C. Sc., Phys.-Math. MEPhI.

*Contacts: 24, Kashirskoe sh., Moscow, Russia, 115478. Tel.: +7(915)418-99-23; e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru.

References

1. **Sheino I.N., Izhevskij P.V., Lipengolts A.A., Kulakov V.N., Wagner A.A., Sukhikh E.S., Varlachev V.A.** Development of binary technologies of radiotherapy of malignant neoplasms: condition and problems. *Byulleten' sibirskoi meditsiny – Bulletin of Siberian Medicine*, 2017, vol. 16, no. 3, pp. 192-209. (In Russian).
2. **Lipengolts A.A., Skribitsky V.A., Finogenova Y.A., Shulyak A.T., Abakumov M.A., Bykov A.Y., Grigorieva E.Y., Smirnova A.V., Shpakova K.E., Zhizhin K.Y.** Hafnium complexes as contrast media and dose enhancing agents for radiology and contrast-enhanced radiotherapy. *Biophysics*, 2024, vol. 69, no. 1, pp. 148-155.
3. **Rose J.H., Norman A., Ingram M., Aoki C., Solberg T., Mesa A.** First radiotherapy of human metastatic brain tumors delivered by a computerized tomography scanner (CTRx). *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1999, vol. 45, no. 5, pp. 1127-1132.
4. **Finogenova Y.A., Lipengolts A.A., Skribitsky V.A., Shpakova K.E., Smirnova A.V., Skribitskaya A.V., Sycheva N.N., Grigorieva E.Y.** Metal nanoparticles as radiosensitizers for cancer radiotherapy in vivo. *Meditsinskaya fizika – Medical Physics*, 2023, no. 3, pp. 70-86. (In Russian).
5. **Skrodzki D., Molinaro M., Brown R., Moitra P., Pan D.** Synthesis and bioapplication of emerging nano-materials of hafnium. *ACS Nano*, 2024, vol. 18, no. 2, pp. 1289-1324.
6. **Thivat E., Casile M., Moreau J., Molnar I., Dufort S., Seddik K., Le Duc G., De Beaumont O., Loeffler M., Durando X., Biau J.** Phase I/II study testing the combination of AGuIX nanoparticles with radiochemotherapy and concomitant temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma (NANO-GBM trial protocol). *BMC Cancer*, 2023, vol. 23, no. 1, pp. 344. DOI: 10.1186/s12885-023-10829-y.
7. **Gerken L.R., Gerdes M.E., Pruschy M., Herrmann I.K.** Prospects of nanoparticle-based radioenhancement for radiotherapy. *Mater. Horiz.*, 2023, vol. 10, pp. 4059-4082.
8. **Hainfeld J.F., O'Connor M.J., Dilmanian F.A., Slatkin D.N., Adams D.J., Smilowitz H.M.** Micro-CT enables microlocalisation and quantification of Her2-targeted gold nanoparticles within tumour regions. *Br. J. Radiol.*, 2011, vol. 84, no. 1002, pp. 526-533.
9. **Skribitsky V.A., Pozdniakova N.V., Lipengolts A.A., Popov A.A., Tikhonowski G.V., Finogenova Y.A., Smirnova A.V., Grigorieva E.Y.** A spectrophotometric method for estimation of the size and concentration of laser ablated gold nanoparticles. *Biophysics*, 2022, vol. 67, no. 1, pp. 22-26.
10. **Roeske J.C., Nunez L., Hoggarth M., Labay E., Weichselbaum R.R.** Characterization of the theoretical radiation dose enhancement from nanoparticles. *Technol. Cancer Res. Treat.*, 2007, vol. 6, no. 5, pp. 395-401.
11. **Duval K.E.A., Aulwes E., Zhang R., Rahman M., Ashraf M.R., Sloop A., Sunnerberg J., Williams B.B., Cao X., Bruza P., Kheirollah A., Tavakkoli A., Jarvis L.A., Schaner P.E., Swartz H.M., Gladstone D.J., Pogue B.W., Hoopes P.J.** Comparison of tumor control and skin damage in a mouse model after ultra-high dose rate irradiation and conventional irradiation. *Radiat. Res.*, 2023, vol. 200, no. 3, pp. 223-231.
12. **Lipengolts A.A., Cherepanov A.A., Pervova V.V., Kulakov V.N., Grigorieva E.Y., Sheino I.N.** Mammary adenocarcinoma Ca755 as a tumor model for experimental radiotherapy. *Meditsinskaya fizika – Medical Physics*, 2016, no. 4, pp. 80-83. (In Russian).
13. **Elnikova A.A.** Tumor microenvironment – a dark horse in anticancer chemotherapy. *Zdorovye i obrazovanie v XXI veke – Health and Education at XXI century*, 2015, vol. 17, no. 1, pp. 84-86. (In Russian).
14. **Bogdanova I.M., Boltovskaya M.N., Rakhmilevich A.L., Artemyeva K.A.** Key role of tumor-associated macrophages in the progressing and metastasis of tumors. *Immunologiya – Immunology*, 2019, vol. 40, no. 4, pp. 41-47. (In Russian).
15. **Lipengolts A.A., Vorobyeva E.S., Cherepanov A.A., Abakumov M.A., Abakumova T.O., Smirnova A.V., Finogenova Y.A., Grigorieva E.Y., Sheino I.N., Kulakov V.N.** Evaluation of absorbed dose distribution in

- melanoma B16B10 during contrast enhanced radiotherapy with intratumoral administration of dose-enhancing agent. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta – Bulletin of RSMU*, 2018, no. 5, pp. 70-75. (In Russian).
16. **Hainfeld J.F., Slatkin D.N., Smilowitz H.M.** The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice. *Phys. Med. Biol.*, 2004, vol. 49, no. 18, pp. N309-N315.
 17. **Skribitsky V.A., Finogenova Y.A., Lipengolts A.A., Pozdniakova N.V., Smirnova A.V., Shpakova K.E., Grigorieva E.Y.** In vivo studies of laser-ablated gold nanoparticles as dose enhancers for binary radiotherapy of cancer. *Phys. At. Nuclei*, 2022, vol. 85, no. 9, pp. 1598-1602.
 18. **Nosrati H., Seidi F., Hosseinmirzaei A., Mousazadeh N., Mohammadi A., Ghaffarlou M., Danafar H., Conde J., Sharafi A.** Prodrug polymeric nanoconjugates encapsulating gold nanoparticles for enhanced X-ray radiation therapy in breast cancer. *Adv. Healthc. Mater.*, 2022, vol. 11, no 3, pp. e2102321. DOI: 10.1002/adhm.202102321.
 19. **Yang C., Gao Y., Fan Y., Cao L., Li J., Ge Y., Tu W., Liu Y., Cao X., Shi X.** Dual-mode endogenous and exogenous sensitization of tumor radiotherapy through antifouling dendrimer-entrapped gold nanoparticles. *Theranostics*, 2021, vol. 11, no 4, pp. 1721-1731.
 20. **Dou Y., Guo Y., Li X., Li X., Wang S., Wang L., Lv G., Zhang X., Wang H., Gong X., Chang J.** Size-tuning ionization to optimize gold nanoparticles for simultaneous enhanced CT imaging and radiotherapy. *ACS Nano*, 2016, vol. 10, no. 2, pp. 2536-2548.