



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G09B 23/28 (2022.08); A61B 6/02 (2022.08)

(21)(22) Заявка: 2022114231, 26.05.2022

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.05.2022

Дата регистрации:
11.04.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 26.05.2022

(45) Опубликовано: 11.04.2023 Бюл. № 11

Адрес для переписки:

115522, Москва, Каширское ш., 24, Федеральное
государственное бюджетное учреждение
"Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии имени
Н.Н. Блохина" Министерства здравоохранения
Российской Федерации, отдел патентной и
изобретательской работы

(72) Автор(ы):

Смирнова Анна Вячеславна (RU),
Финогенова Юлия Андреевна (RU),
Варакса Павел Олегович (RU),
Липенгольд Алексей Андреевич (RU),
Скрибицкий Всеволод Андреевич (RU),
Лагодзинская Юлия Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии имени
Н.Н. Блохина" Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н.
Блохина" Минздрава России) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: DING G. et al. MRI investigation of
glymphatic responses to Gd-DTPA infusion rates.
J Neurosci Res. 2018, 96(12), pp. 1876-1886. RU
2526181 C2, 20.08.2014. КОСТЕНИКОВ Н.А.
и др. Возможности визуализации
глиобластомы малого размера методом ПЭТ-
КТ с 11С - холином (экспериментальное
исследование). Лучевая диагностика и
терапия. 2020, 11(4), (см. прод.)

(54) Способ введения рентгеноконтрастных веществ в организм лабораторных грызунов для прижизненной
лучевой визуализации внутренних органов для оценки динамики роста злокачественных органотропных
новообразований в экспериментальной онкологии

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно
к экспериментальной онкологии, и может быть
использовано для прижизненной лучевой
визуализации злокачественных новообразований
внутренних органов. У экспериментальных
животных в стадии медикаментозного сна
обеспечивают доступ к периферийной вене -
хвостовой, в срединную часть которой
устанавливают внутривенную канюлю со
скоростью протока контраста 17 мл/мин и

подключают инфузионную систему контроля
поступления рентгеноконтрастного вещества.
Далее проводят введение исследуемого животного
в гентри компьютерного томографа, затем
обеспечивают поступление рентгеноконтрастного
вещества со скоростью 0,25 мл/мин и проводят
сканирование зоны интереса. Способ
обеспечивает возможность оценки накопления
контрастного вещества в зонах интереса и/или
патологических очагах без нарушения основных

физиологических параметров жизнедеятельности организма лабораторного животного за счет более низкой концентрации и более высокой

текучности используемого контрастного средства.
4 ил.

(56) (продолжение):

стр.30-36. ТРИФАНОВ В.С. и др. PDX-модель высокодифференцированной нейроэндокринной опухоли поджелудочной железы на иммунодефицитных мышях линии Balb/c Nude. Альманах клинической медицины. 2020, 48(2), стр. 117-124. ФИНОГЕНОВА Ю.А. и др. Использование in vivo методов радионуклидной визуализации в экспериментальной онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2020, 19(3), стр. 137-145. LI P. et al. 18F-Deoxyglucose (18F-FDG) Positron Emission Tomography/Computed Tomography (PET/CT) Monitoring of Dynamic Growth Characteristics of Walker-256 Tumor Models in 3 Different Locations in Rats. Med Sci Monit. 2019, 25, pp. 558-564.

R U 2 7 9 4 0 3 4 C 1

R U 2 7 9 4 0 3 4 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G09B 23/28 (2022.08); A61B 6/02 (2022.08)(21)(22) Application: **2022114231, 26.05.2022**(24) Effective date for property rights:
26.05.2022Registration date:
11.04.2023

Priority:

(22) Date of filing: **26.05.2022**(45) Date of publication: **11.04.2023** Bull. № 11

Mail address:

115522, Moskva, Kashirskoe sh., 24, Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe uchrezhdenie "Natsionalnyj meditsinskij issledovatel'skij tsentr onkologii imeni N.N. Blokhina" Ministerstva zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii, otdel patentnoj i izobretatel'skoj raboty

(72) Inventor(s):

**Smirnova Anna Vyacheslavna (RU),
Finogenova Yuliya Andreevna (RU),
Varaksa Pavel Olegovich (RU),
Lipengolts Aleksej Andreevich (RU),
Skribitskij Vsevolod Andreevich (RU),
Lagodzinskaya Yuliya Sergeevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe uchrezhdenie "Natsionalnyj meditsinskij issledovatel'skij tsentr onkologii imeni N.N. Blokhina" Ministerstva zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (FGBU "NMITS onkologii im. N.N. Blokhina" Minzdrava Rossii) (RU)

(54) **METHOD FOR INTRODUCING RADIOPAQUE SUBSTANCES INTO THE BODY OF LABORATORY RODENTS FOR INTRAVITAL RADIATION IMAGING OF INTERNAL ORGANS TO ASSESS THE GROWTH DYNAMICS OF MALIGNANT ORGANOTROPIC NEOPLASMS IN EXPERIMENTAL ONCOLOGY**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to experimental oncology, and can be used for intravital radiation imaging of malignant neoplasms of internal organs. In experimental animals at the stage of drug-induced sleep, access is provided to the peripheral vein — the tail, in the middle part of which an intravenous cannula is installed with a contrast flow rate of 17 ml/min and an infusion system is connected to control the flow of radiopaque substance. Next, the test animal is

introduced into the gantry of a computed tomograph, then the radiopaque substance is supplied at a rate of 0.25 ml/min, and the area of interest is scanned.

EFFECT: method makes it possible to assess the accumulation of a contrast agent in areas of interest and/or pathological foci without disturbing the basic physiological parameters of the vital activity of the body of a laboratory animal due to a lower concentration and higher fluidity of the contrast agent used.

1 cl, 4 dwg

Изобретение относится к медицине, а именно, к экспериментальной онкологии, и может быть использовано для прижизненной лучевой визуализации органов и тканей модельных организмов размером больше мыши, прежде всего крыс, для изучения в экспериментальных условиях особенностей их анатомических систем с опухолями различной локализации, уточнения параметров их кровоснабжения, обнаружения метастатических очагов.

Лучевая визуализация и дифференциация экспериментальных злокачественных новообразований актуальна для прижизненной верификации опухолевых моделей у лабораторных животных размером больше мыши, прежде всего, крыс, для изучения и отбора наиболее перспективных лекарственных средств, в том числе и радиофармацевтических, которые потенциально могут применяться для тераностики. Особенностью экспериментальной онкологии является то, что изучение процесса роста опухоли внутри тела сопряжено со сложностями технического характера - необходимо получить максимальное количество животных-моделей с однотипными нарушениями, связанными с процессами развития злокачественных новообразований внутриорганной локализации, но при этом сама динамика развития опухоли остается для исследователя скрытой в живом организме. Динамика роста таких опухолей может различаться в группах животных, что значимо увеличивает риски получения как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов в процессе доклинического изучения лекарственных средств, в том числе и радиофармацевтических тераностических препаратов. По этой причине традиционно для верификации и оценки стадии опухолевого процесса пользуются методом увеличенного экспериментального поголовья, что осложняет работу с иммунодефицитными животными. Однако данный метод не позволит узнать степень развития опухолевых очагов, в частности, метастатического происхождения, до тех пор, пока не будет проведена патологоанатомическая оценка степени повреждения. В этом случае животных из эксперимента выводят, то есть проводят убой с последующим анатомированием, что делает такой метод малоэффективным и финансово затратным.

Методы лучевой визуализации показали возможность определения патологических процессов в организме лабораторных грызунов, при этом животное оставалось живым [Смирнова А.В., Варакса П.О., Финогенова Ю.А. и др. Возможность применения магнитно-резонансной томографии в прижизненной верификации метастатического поражения легких мышей. Российский биотерапевтический журнал 2021;20(2):69-75. DOI: 10.17650/1726-9784-2021-20-2-69-75; Финогенова Ю.А., Липенгольц А.А., Смирнова А.В., Григорьева Е.Ю. Использование in vivo методов радионуклидной визуализации в экспериментальной онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 137-145. - doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-137-145; 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 поглощенной дозы при фотон-захватной терапии с интратуморальным введением дозоповышающего агента в меланоме В16F10. Вестник Российского государственного медицинского университета. 2018. №5: 70-75 - doi: 10.24075/brsmu.2018.062; Liu, J., Zhou, J., Li, J., Zhang, L., Zhang, P., Liu, B. "Evaluation of rat C6 malignant glioma using spectral computed tomography". Experimental and Therapeutic Medicine 14, no. 2 (2017): 1037-1044. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4613>; Cuenod, C. A., Leconte, I., Siauve, N., Resten, A., Dromain, C, Poulet, B. (2001). Early Changes in Liver Perfusion Caused by Occult Metastases in Rats: Detection with Quantitative CT. Radiology, 218(2), 556-561. doi:10.1148/radiology.218.2.r01fel0556; Torchilin, V.P., Frank-Kamenetsky, M.D., & Wolf, G. L. (1999). CT visualization of blood pool in rats by using long-

circulating, iodine-containing micelles. *Academic Radiology*, 6(1), 61-65. doi:10.1016/s1076-6332(99)80063-4; Ehling, J., Theek, B., Gremse, F., Baetke, S., Möckel, D., Maynard, J.,... & Lammers, T. (2014). Micro-CT imaging of tumor angiogenesis: quantitative measures describing micromorphology and vascularization. *The American journal of pathology*, 184(2), 431-441.]

Современные технологии упрощают определение зон интереса исследователя. Так, существующие контрастные средства могут вводиться внутривенно или в изъятые из тела животного органы [Deng, Y., Rowe, K. J., Chaudhary, K. R., Yang, A., Mei, S. H., & Stewart, D. J. (2019). Optimizing imaging of the rat pulmonary microvasculature by micro-computed tomography. *Pulmonary circulation*, 9(4), 2045894019883613. Kavkova, M., Zikmund, T., Kala, A. et al. Contrast enhanced X-ray computed tomography imaging of amyloid plaques in Alzheimer disease rat model on lab based micro CT system. *Sci Rep* 11, 5999 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84579-x>].

В настоящее время введение рентгеноконтрастных средств в организм лабораторных грызунов проводится болюсной техникой. Опционно, перед исследованием животное погружают в медикаментозный сон ингаляцией изофлурана. Затем разово вводят небольшое количество рентгеноконтрастного агента в доступные сосуды, после чего животное перемещают в гентри компьютерного томографа и начинают сканирование.

[Ehling, J., Theek, B., Gremse, F., Baetke, S., Möckel, D., Maynard, J., ... & Lammers, T. (2014). Micro-CT imaging of tumor angiogenesis: quantitative measures describing micromorphology and vascularization. *The American journal of pathology*, 184(2), 431-441. Starosolski, Z., Villamizar, C., Rendon, D. et al. Ultra High-Resolution In vivo Computed Tomography Imaging of Mouse Cerebrovasculature Using a Long Circulating Blood Pool Contrast Agent. *Sci Rep* 5, 10178 (2015). <https://doi.org/10.1038/srepl0178> Ghanavati, S., Lisa, X. Y., Lerch, J. P., & Sled, J. G. (2014). A perfusion procedure for imaging of the mouse cerebral vasculature by X-ray micro-CT. *Journal of neuroscience methods*, 221, 70-77. Hlushchuk, R., Haberthür, D., Soukup, P. et al. Innovative high-resolution microCT imaging of animal brain vasculature. *Brain Struct Funct* 225, 2885-2895 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00429-020-02158-81>. Данный способ использования рентгеноконтрастного соединения для визуализации принят нами за прототип.

Недостатки прототипа. За то время, когда животное перемещают и укладывают, происходит первичное распределение соединения по органам и тканям с током крови, и первые несколько минут этого процесса выпадают из времени наблюдения. В связи с малым размером лабораторных грызунов и малым объемом циркулирующей крови, данная техническая задержка исключает возможность проследить начало движения соединений как по сосудистому руслу, так и в очаги интереса. В частности, это актуально для опухолей внутриорганного расположения, для патологических очагов центральной нервной системы (ввиду наличия анатомических барьеров) и/или для наблюдения за движением рентгеноконтрастного лекарственного средства по сосудам. Значительные сложности возникают тогда, когда контрастное средство обладает значительной вязкостью. В этом случае первые 3-5 минут сканирования оказываются полностью неучтенными. В доступной литературе найти способов решения такой задачи - проследить распределение контрастного вещества в первые минуты сканирования - нам не удалось.

Основным недостатком болюсной техники является то, что накопление контрастного вещества в первые 3-5 минут также невозможно определять технически из-за конструктивных особенностей микро-КТ-аппаратов, существующих на сегодняшний

день, которые не позволяют провести детекцию скорости поступления контрастного вещества в кровеносное русло - для данных препаратов применяют только технику болюсного введения, которое может быть повторено несколько раз.

Причиной данного технологического подхода является то, что вещества для контрастирования достаточно вязкие и/или требуют очень медленного введения. Также технологически в системах контролируемого дозирования высокая вязкость препарата не позволяет ему проходить через малый диаметр канюли с необходимой для исследователя стандартной скоростью (0,25 мл/мин). Поэтому, в случае длительного проведения исследования, имитирующего медленное поступление рентгеноконтрастного средства в организм, необходимо извлекать животное из томографа, вводить новую порцию препарата, неизбежно изменяя положение животного, помещать животное обратно в камеру для съемки и проводить новое сканирование, либо работать на кровати томографа, что является небезопасным для оператора.

В случае с животными большими по размеру, чем лабораторная мышь, в частности, с крысами, существует возможность проведения контрастирования зон интереса и/или эксклюзивно опухолевых очагов при помощи рентгеноконтрастных средств, применяемых у человека или созданных для терапии злокачественных новообразований. Данные доступной для анализа литературы указывают, что их можно вводить в хвостовую вену животного достаточно длительно и в высоких концентрациях [Akladios, C.Y., Bour, G., Raykov, Z., Mutter, D., Marescaux, J., & Aprahamian, M. (2013). Structural imaging of the pancreas in rat using micro-CT: application to a non-invasive longitudinal evaluation of pancreatic ductal carcinoma monitoring. / *Cancer Res Ther*, 1, 70-76. Toy, R., Hayden, E., Camann, A., Berman, Z., Vicente, P., Tran, E., ... & Karathanasis, E. (2013). Multimodal in vivo imaging exposes the voyage of nanoparticles in tumor microcirculation. *ACS nano*, 7(4), 3118-3129. Clark, D. P., & Badea, C.T. (2014). Micro-CT of rodents: state-of-the-art and future perspectives. *Physica medica*, 30(6), 619-634. Lee, Y. C, Antonio, S., & Antonio, S. (2015). Comparison of multimodality image-based volumes in preclinical tumor models using In-Air micro-CT image volume as reference tumor volume. *Open Journal of Medical Imaging*, 5(03), 117.].

Задачей заявляемого изобретения является получение изображения распределения рентгеноконтрастного вещества в организме животного в первые 3-5 минут КТ-сканирования.

Задача решается тем, что предложен новый способ введения рентгеноконтрастных веществ в организм лабораторных грызунов для прижизненной лучевой визуализации внутренних органов для оценки динамики роста экспериментальных органотропных злокачественных новообразований в экспериментальной онкологии, заключающийся в том, что животному, находящемуся в стадии медикаментозного сна, устанавливают систему для постоянной низкопротоковой подачи контрастного средства низкой концентрации. В отличие от болюсной техники, при которой в организм сразу одномоментно поступает высокая концентрация контрастного соединения, при предложенном способе введения препарата поступление его в кровоток происходит медленно, постоянно, в течение всего времени сканирования, и насыщает собой зоны интереса постепенно. При этом возможно ввести достаточно большое количество контрастирующего препарата, не нагружая избыточным количеством контраста почки, так как нагрузка на них снижается за счет выведения его избытка в более низких концентрациях в силу физиологически совместимого растворителя, разрешенного для его разбавления (например, физиологический раствор).

Технический результат:

Получение изображения анатомических органов и систем лабораторных грызунов (крыс) методом компьютерной томографии в первые 3-5 минут сканирования при постоянной подаче низкоконцентрированного рентгеноконтрастного средства через системы регулируемого протока.

5 Предложенный нами способ в силу более низкой концентрации и более высокой текучести контрастного средства, а также контроля скорости его поступления позволяет обеспечить исследователя возможностью оценки накопления контрастного вещества в зонах интереса и/или патологических очагах без нарушения основных физиологических параметров жизнедеятельности организма. Этот подход позволяет оценить и
10 верифицировать опухолевую модель, предназначенную для дальнейших исследований. Методика введения препарата через установленные венозные канюли с последующим их подключением к системам контролируемого дозирования позволяет, не прибегая к методу прерывистого наркоза и болюсного введения, включать систему автоматизированной подачи контрастного средства уже непосредственно сразу после
15 начала дозирования позволяет, не прибегая к методу прерывистого наркоза и болюсного введения, включать систему автоматизированной подачи контрастного средства уже непосредственно сразу после начала сканирования, что обеспечивает получение изображения с первых секунд попадания соединения в организм. Таким образом, можно проводить изучение как патологических изменений в организме, так и заранее, на стадии
20 отбора экспериментальных животных, формировать максимально однотипные группы экспериментальных животных, в том числе с ортотопическим расположением опухоли для оценки диагностического/терапевтического потенциала препаратов.

Способ осуществляется следующим образом. У экспериментальных животных в
стадии медикаментозного сна обеспечивают доступ к периферийной вене - хвостовой,
25 в срединную часть которой устанавливают внутривенную канюлю со следующими характеристиками: диаметр сечения 0,6 мм, длина канюли 19 мм, толщина пункционной иглы-проводника - 26G, скорость протока 17 мл/мин., после чего заполняют резервуар канюли гепарином 50000 Ед/мл - 0,01 мл, после чего систему канюли надежно фиксируют крепящей повязкой. Далее у животного поддерживают медикаментозный сон методом
30 ингаляции изофлурана, и подключают инфузионную систему любого типа контроля поступления контрастирующего агента, разведенного разрешенным для этого растворителем в соотношении 1:1. По завершении данного этапа проводят введение исследуемого животного в гентри компьютерного томографа. Следующим этапом обеспечивают поступление контрастирующего агента со скоростью 0,25 мл/мин в
35 организм и проводят сканирование зоны интереса, в том числе с возможностью динамического сканирования в следующих условиях: компьютерная томография (КТ) была выполнена с помощью томографа MiLabs VECTor6 (Нидерланды), во время сканирования крысы находились в состоянии наркоза, вызванном воздушной смесью 2% изофлурана, при этом проводился контроль частоты дыхательных движений с
40 помощью дыхательного датчика и программы BioVet. Постобработка и анализ изображений были выполнены в программе PMod.

Изобретение иллюстрируется фиг. 1-4.

На фиг. 1 - нормальное сердце крысы: а - корональная проекция; б - аксиальная проекция;

45 На фиг. 2 - сердце крысы с патологическими изменениями по типу кардиомиопатии: а - корональная проекция; б - аксиальная проекция;

На фиг. 3 - нормальный головной мозг крысы, а - корональная проекция; б - сагиттальная проекция;

На фиг.4 - опухоль головного мозга крысы: а - корональная проекция; б - сагиттальная проекция.

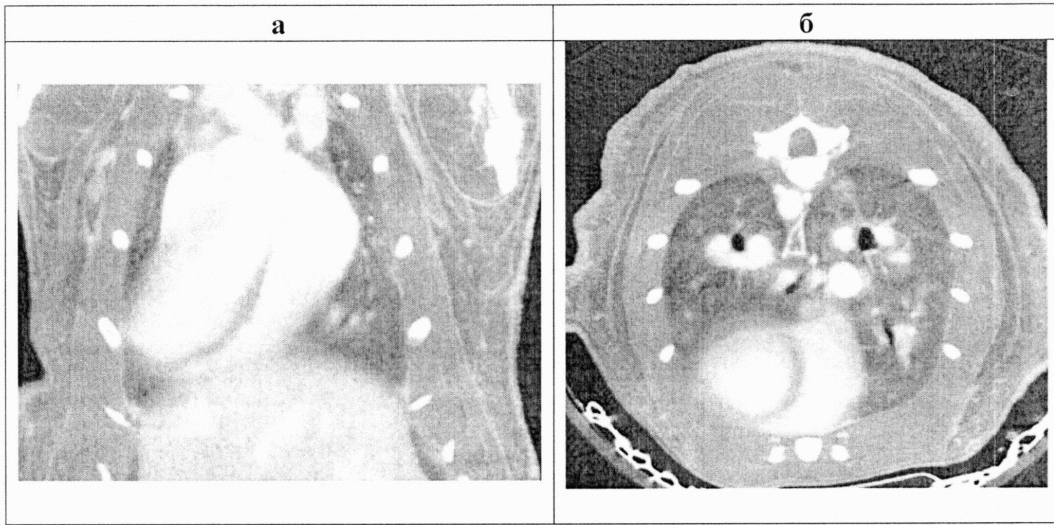
Основанием для предлагаемого способа являются результаты экспериментального исследования, выполненного на 6 белых крысах Wistar, массой 180-220 г. После ингаляционной подачи изофлурана, в срединную часть хвостовой вены устанавливали канюлю для внутривенных вливаний (скорость протока контраста через канюлю 17 мл/мин), крепили систему пластырем, укладывали животное в специализированное удерживающее устройство - кровать - для компьютерной томографии с постоянным притоком изофлурана, после чего аппарат автоматически перемещал кровать внутрь камеры для проведения сканирования. Как только начиналось КТ-сканирование, включалась система для автоматизированной подачи препарата в хвостовую вену. Животным по заявляемому способу проводилось внутривенное длительное введение рентгеноконтрастного средства 50% концентрации со скоростью 0,25 мл/мин в течение всего времени сканирования. Таким образом, были получены изображения нормального сердца крысы (фиг. 1) и сердца крысы со смоделированной кардиомиопатией (фиг. 2); нормального головного мозга (фиг. 3), а в последующем определена локализация экспериментальной опухоли головного мозга (фиг. 4).

Таким образом, предложенный способ позволяет с первых минут сканирования определить динамические характеристики накопления препарата с контрастными свойствами в областях интереса. Предложенный способ позволяет решить следующие задачи: (1) установить особенности строения сосудистого русла и камер сердца, (2) выявить и оконтурить первичные опухолевые и потенциально метастатические очаги злокачественных новообразований, (3) получить изображение сердца целиком, прилежащих крупных кровеносных сосудов, головного мозга. Данные возможно получать без выведения животных из экспериментальной работы, что актуально для отработки методик экспериментальной онкологии, а именно при моделировании органотропных злокачественных новообразований.

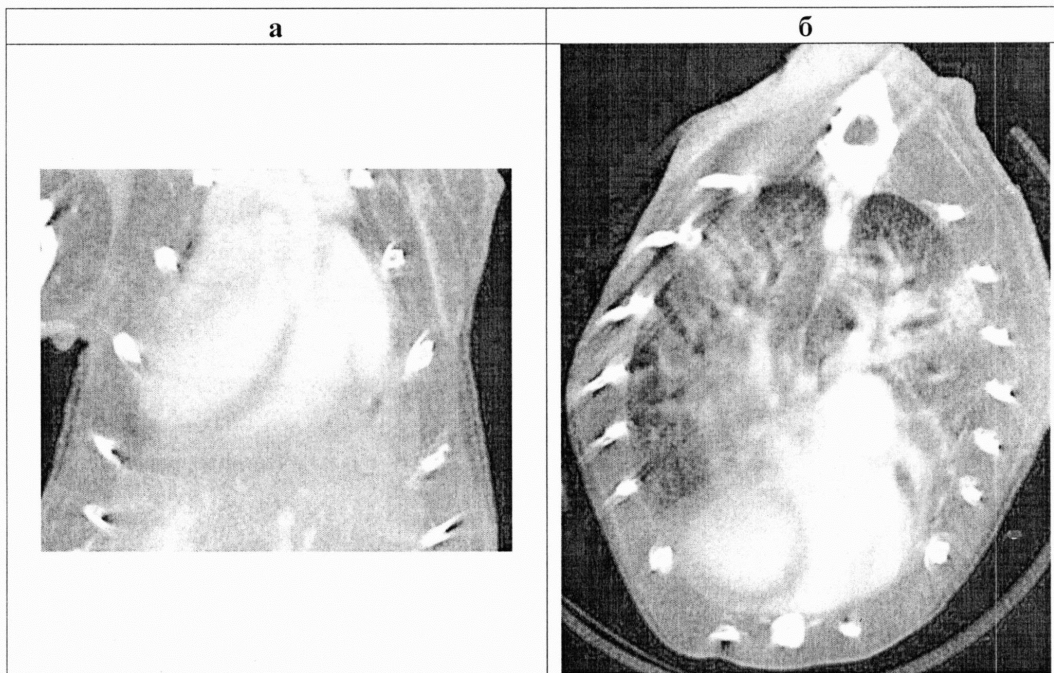
(57) Формула изобретения

Способ введения рентгеноконтрастных веществ в организм лабораторных грызунов для прижизненной лучевой визуализации злокачественных новообразований внутренних органов, отличающийся тем, что у экспериментальных животных в стадии медикаментозного сна обеспечивают доступ к периферийной вене - хвостовой, в срединную часть которой устанавливают внутривенную канюлю, скорость протока 17 мл/мин, далее у животного поддерживают медикаментозный сон методом ингаляции изофлурана и подключают инфузионную систему контроля поступления рентгеноконтрастного вещества, разведенного разрешенным для этого растворителем в соотношении 1:1, по завершении данного этапа проводят введение исследуемого животного в гентри компьютерного томографа; затем обеспечивают поступление рентгеноконтрастного вещества 50% концентрации со скоростью 0,25 мл/мин и проводят сканирование зоны интереса.

1



Фиг. 1



Фиг. 2

2

