

Для цитирования: Авров К.О., Шатик С.В., Самойлович М.П. Способы уменьшения накопления радиоактивности в почках при таргетной терапии с использованием малых молекул, пептидов и фрагментов антител. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 162–171. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-162-171

For citation: Avrov K.O., Shatik S.V., Samoilovich M.P. Ways to reduce radioactivity accumulation in the kidney during targeted therapy using small molecules, peptides and antibody fragments. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 162–171. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-162-171

СПОСОБЫ УМЕНЬШЕНИЯ НАКОПЛЕНИЯ РАДИОАКТИВНОСТИ В ПОЧКАХ ПРИ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ, ПЕПТИДОВ И ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ

К.О. Авров, С.В. Шатик, М.П. Самойлович

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова»
Минздрава России
Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 70

Аннотация

Введение фармпрепаратов, содержащих радиоактивные изотопы и способных специфически связываться с определенными белками, является одним из подходов, применяемых при лечении или диагностике злокачественных опухолей. При этом важной задачей является решение проблемы накопления радиоактивности в почках после введения в организм радиокоњуговатов с молекулярной массой менее 70 КДа. **Цель исследования** – выявление наиболее эффективных подходов, способствующих уменьшению накопления радиоактивности в почках при использовании радиокоњуговатов в ходе диагностики и таргетной терапии опухолевых заболеваний. **Материал и методы.** Проведен поиск литературы по теме обзора в электронных базах данных PubMed, Scopus и Web of Science в период с 1987 по 2023 г., 82 статьи использовано при написании обзора. **Результаты.** Представлено описание подходов, используемых для улучшения биораспределения радиокоњуговатов, главным образом, в доклинических исследованиях, описаны достоинства и недостатки таких методик. **Заключение.** Уменьшение радиоактивности в почках при использовании радиокоњуговатов молекул с молекулярной массой менее 70 КДа является непростой, но решаемой задачей. Сделан вывод о высокой перспективности использования в подобных радиокоњугатах расщепляемых линкеров, поскольку такой подход не меняет фармакокинетику таких препаратов. Отмечено, что преимуществом введения сопутствующих веществ по сравнению с изменением строения радиокоњуговатов является меньшая зависимость от особенностей того или иного радиофармпрепарата (РФП). Также этот подход не требует предварительной работы по модификации радиокоњугата, однако имеет ограниченную эффективность.

Ключевые слова: радиофармпрепараты, накопление радиоактивности в почках, таргетная терапия, опухоли.

WAYS TO REDUCE RADIOACTIVITY ACCUMULATION IN THE KIDNEY DURING TARGETED THERAPY USING SMALL MOLECULES, PEPTIDES AND ANTIBODY FRAGMENTS

K.O. Avrov, S.V. Shatik, M.P. Samoilovich

A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies
of the Ministry of Health of Russia
70, Leningradskaya St., Saint Petersburg, Pesochny village, 197758, Russia

Abstract

Administration of pharmaceuticals containing radioactive isotopes and capable of specific binding to certain proteins is one of the approaches used in the treatment or diagnosis of malignant tumors. High renal accumulation of radioactive compounds after administration of radioconjugates with molecular mass less than 70 kDa is one of the challenges that need to be solved. **The purpose of the study** was to identify the most effective approaches to reduce the accumulation of radioactivity in the kidneys after administration of radioconjugates used for diagnostic imaging and targeted therapy for cancer. **Material and Methods.** We conducted a literature search on the topic of the review in the electronic databases PubMed, Scopus and Web of Science from 1987 to 2023, 82 articles were used for writing the review. **Results.** The review presents a description of approaches used to improve the biodistribution of radioconjugates, mainly in preclinical studies. The advantages and disadvantages of such techniques have been described. **Conclusion.** Reducing renal radioactivity using radioconjugates of molecules with molecular masses less than 70 kDa is a challenging but achievable task. It is concluded that the use of cleavable linkers in such radioconjugates is highly promising, since this approach does not change the pharmacokinetics of such drugs. It is noted that the advantage of introducing concomitant substances compared to changing the structure of radioconjugates is a lesser dependence on the characteristics of a particular radiopharmaceutical. This approach also does not require prior work to modify the radioconjugate, but has limited efficiency.

Key words: radiopharmaceuticals, accumulation of radioactivity in the kidneys, targeted therapy, tumors.

Введение

Введение фармпрепаратов, содержащих радиоактивные изотопы, является одним из подходов, применяемых при лечении или диагностике злокачественных опухолей. Использование для этих целей радиоконъюгатов, способных специфически связываться с определенными белками, экспрессируемыми клетками, представляется особенно перспективным, поскольку позволяет осуществлять адресную доставку радионуклидов к клеткам опухоли, что должно увеличить эффективность таких фармпрепаратов. Благодаря точности воздействия подобная терапия является альтернативой, позволяющей преодолеть ограничения традиционных методов лечения, таких как хирургическое вмешательство, химиотерапия и дистанционная лучевая терапия. В последние десятилетия широко изучаются эффекты меченных радионуклидами антител и их фрагментов как на животных, так и в клинических исследованиях.

Для создания радиоиммуноконъюгатов на основе целых моноклональных антител (МКАТ) обычно используются иммуноглобулины класса G (IgG), состоящие из четырех полипептидных цепей. Молекулярная масса молекул IgG составляет примерно 150 кДа, что приводит к более медленному их проникновению в различные органы и ткани относительно фрагментов антител и других белковых молекул с меньшей молекулярной массой, также обладающих специфической активностью [1–3]. При этом целые антитела демонстрируют более высокий уровень накопления в опухоли, но это достигается за счет более долгого циркулирования антител в крови и, соответственно, более длительного воздействия на ткань [3, 4]. Однако долгое циркулирование может приводить к неспецифическому насыщению различных тканей радиоиммуноконъюгатами и, как следствие, к высоким фоновым значениям при диагностике с

использованием позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) или однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ).

Кроме того, негативным свойством иммуноглобулинов, используемых для создания РФП, является наличие эффекторных функций, обусловленных присутствием Fc-фрагмента, способного связываться с Fc-рецепторами клеток иммунной системы. Это может приводить к уменьшению контрастности изображения, затрудняя диагностику [5, 6].

Как было отмечено, при изготовлении радиоконъюгатов, предназначенных для диагностики и терапии злокачественных новообразований, помимо целых антител используются и другие молекулы, селективно связывающиеся с соответствующими белками. Они могут быть фрагментами антител или иметь иную природу. К ним относятся F(ab')₂-фрагменты (молекулярный вес – 110 кДа), мини-тела (75 кДа), Fab-фрагменты (50–55 кДа), диатела (50 кДа), scFv (28 кДа), наноантитела (12–15 кДа), каркасные белки (3–20 кДа), короткие пептиды и различные непептидные лиганды. Эти молекулы лишены эффекторных функций, обусловленных наличием Fc фрагмента и присущих целым антителам. Важно, что селективные молекулы с молекулярной массой менее 70 кДа, включая фрагменты антител и каркасные белки, достаточно малы, чтобы проходить через почечные клубочки в первичную мочу в почечных канальцах. Фильтрация этих молекул приводит к более быстрому клиренсу и меньшему накоплению в печени. Однако почечный захват радиоактивно меченных фрагментов намного выше, чем у интактных антител, поскольку клетки почечных канальцев наряду с ионами и малыми молекулами реабсорбируют небольшие радиоактивные белки и пептиды. После эндоцитоза в проксимальных канальцах белки и пептиды катаболизируются до аминокислот в

лизосомах. Эти аминокислоты транспортируются или диффундируют из лизосом в цитоплазму и возвращаются в кровоток. При этом многие радиоактивно меченные катаболиты не могут проникать через лизосомальную мембрану. Задержка в лизосомах этих продуктов приводит к накоплению радиоактивности в почках [7, 8]. Таким образом, если крупные радиоиммуноконъюгаты, такие как меченные IgG, F(ab')₂-фрагменты и мини-тела, после введения надолго задерживаются в крови, то меньшие меченые молекулы (Fab-фрагменты, диатела, scFv, наноантитела, каркасные белки, пептиды и лиганды непептидной природы) значительно быстрее выводятся из кровотока, но при этом имеют очень высокий уровень накопления в почках. При введении в кровь мышей подобных радиоиммуноконъюгатов в почках может накапливаться до половины введенной радиоактивности. Радиоактивность в почках при этом на 1–2 порядка превышает радиоактивность в других органах и тканях. При таком биораспределении РФП нельзя исключать токсичное воздействие радиации на почки, особенно при использовании терапевтических радиоиммуноконъюгатов. Данное обстоятельство в значительной мере нивелирует сильные стороны радиоиммуноконъюгатов, образованных вышеупомянутыми молекулами, к которым относятся небольшие размеры, способствующие проникновению в клетки и ткани, быстрое удаление из крови, благодаря выведению через почки, отсутствие нежелательных эффекторных функций.

Число радиоиммуноконъюгатов на основе лигандов, особенно на основе антител или их фрагментов, имеющих официальное разрешение для использования при лечении пациентов, пока крайне ограничено. Так, Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (U.S. Food and Drug Administration) зарегистрировало несколько радиоиммуноконъюгатов малых селективных молекул с молекулярной массой менее 2 КДа с разными радионуклидами и только один радиоиммуноконъюгат моноклонального антитела против белка CD20, содержащий ⁹⁰Y. Этот препарат, зевалин, используется для лечения неходжкинской лимфомы. В Китае зарегистрирован фармпрепарат, состоящий из конъюгированного с ¹³¹I F(ab')₂ фрагмента антитела, специфичного к белку CD147 (метаксимаба HAb18G) и используемого для лечения гепатоцеллюлярной карциномы [1]. F(ab')₂-фрагмент получают удалением Fc участка моноклонального антитела. У нас нет информации об официальной регистрации для клинического применения радиофармпрепаратов на основе фрагментов антител или каркасных белков с молекулярной массой менее 70 кДа. Одной из причин того, что было зарегистрировано столь малое количество подобных препаратов, являются особенности биораспределения в организме как радиоактивно меченных целых антител, так и их фрагментов, а

также других молекул с относительно небольшой молекулярной массой. Очевидно, что одной из важнейших задач является решение проблемы высокой радиоактивности в почках после использования радиофармпрепаратов.

В настоящем обзоре описаны исследования, направленные на уменьшение накопления в почках радиоиммуноконъюгатов, имеющих молекулярную массу менее 70 КДа, после их введения в кровоток. Биораспределение радиоиммуноконъюгатов может быть улучшено введением в кровь вместе с радиоиммуноконъюгатами сопутствующих веществ, модификацией самих радиоиммуноконъюгатов, а также путем предварительного нацеливания немеченых селективных молекул (претаргетинга).

Введение сопутствующих веществ

Молекулы массой менее 70 кДа могут фильтроваться сквозь мембрану почечных клубочков, попадая в первичную мочу. Затем происходит реабсорбция этих молекул. Катионные белки и пептиды обычно более эффективно реабсорбируются в проксимальных канальцах, чем нейтральные и анионные. Считается, что это различие вызвано преимущественным связыванием катионных групп с анионными сайтами на мембране щеточной каймы клеток проксимальных канальцев. Присутствие во вводимых растворах основных аминокислот замедляет реабсорбцию таких белков и пептидов посредством конкурентного ингибирования [7, 8]. Использование аминокислот, таких как лизин и аргинин, несущих положительный заряд, для уменьшения задержки в почках радиоактивно меченных пептидов и фрагментов антител было подробно исследовано [7, 9].

В ряде работ, выполненных на мышах и крысах, показано, что введение лизина, аминокислоты с выраженными свойствами основания, способствует снижению накопления радиоактивности в почках при одновременном введении меченных радионуклидами Fab-фрагментов [9, 10]. Эффект сильно зависел от количества вводимого лизина. Так, при пятикратном перитонеальном введении лизина мышам из расчета 50 мкг на 1 г веса вместе с введением в кровь меченных ¹¹¹In Fab-фрагментов накопление радиоактивности в почках снижалось через 4 ч на 17,7 % по сравнению с контрольным экспериментом. При десятикратном увеличении дозы это снижение достигало 93,2 %. При этом задержка радиоактивности в крови и других органах практически не менялась независимо от дозы введенного лизина [9]. В настоящее время в клинической практике используется введение L-лизина и L-аргинина пациентам при радиотаргетной терапии с использованием радиоиммуноконъюгатов DOTA-TATE, содержащих агонист соматостатинового рецептора и используемых для диагностики или лечения нейроэндокринных опухолей [11]. Установлен аналогичный положительный эффект метформина

(описан как аналог аргинина, вводится пациентам при диабете) при введении мышам радиоактивно меченных пептидов [12].

Проводились многочисленные исследования уменьшения накопления радиоактивности в почках путем совместного введения с радиоконъюгатами раствора сукцинированного желатина, известного как гелофузин, который используется как заменитель плазмы крови. Введение лизина и гелофузина при одновременном введении с наноконъюгатами мечеными ^{99m}Tc , снижало накопление радиоактивности в почках мышей на 42 % [13]. При этом накопление радиоактивности в опухоли не снижалось. В ряде работ с использованием радиоактивно меченных пептидов также установлен [14–16] положительный эффект гелофузина на накопление радиоактивности в почках мышей и крыс. Уменьшение радиоактивности в почках находилось в прямой зависимости от введенной дозы гелофузина [16]. Введение пациентам гелофузина уменьшило накопление меченного ^{111}In эксендина-4 (пептид, содержащий 39 аминокислот) на 18 %, эксендина-4, меченного ^{68}Ga , – на 57 % [14]. Гелофузин также блокировал накопление в почках крыс и пациентов других пептидов, меченных ^{111}In [15]. При этом показано, что гелофузин не способен изменить накопление в почках меченного лиганда ^{111}In -PSMA-I&T [17]. Есть данные, что накопление радиоконъюгата ^{68}Ga -HBED-CC-PSMA в почках блокировалось осмотическим диуретиком маннитолом [18]. Интересно, что совместное введение лизина или гелофузина не было эффективным для снижения поглощения почками $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-G3 DARPin}$. Введение малеата натрия перед введением $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-G3 DARPin}$ снижало почечную активность на 60,4 %, а введение фруктозы – на 46,9 % по сравнению с контролем [19]. Введение гелофузина или лизина не изменяло накопление $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-ADAPT6}$ в почках. Малеат натрия снижал накопление $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-ADAPT6}$ примерно до 25 % от накопления в контроле, высокая доза фруктозы (50 ммоль/кг) снижала накопление примерно на 30 % [20]. Таким образом, опубликованы работы, в которых утверждается, что лизин и гелофузин не блокировали накопление в почках радиоактивно меченных каркасных белков в отличие от фруктозы и малеата.

При введении сопутствующих веществ вместе с радиоконъюгатами, как правило, удается достичь не более чем двукратного снижения радиоактивности почек [10–16]. Как уже было отмечено, в ранних работах есть данные о значительно более сильном эффекте при введении лизина в количестве, сопоставимом с максимально переносимой дозой для мышей [9].

Изменение строения молекул радиоконъюгатов

Помимо описанного выше подхода с введением сопутствующих веществ, снижение накопления в

почках радиоконъюгатов может быть достигнуто путем изменения количества заряженных и гидрофобных участков и их расположения в молекуле, использованием для мечения соответствующих радионуклидов, применением расщепляемых линкеров, присоединением альбуминсвязывающего домена (АСД), а также присоединением полиэтиленгликоля.

Для улучшения биораспределения радиоконъюгатов, включая накопление в почках, можно менять физико-химические свойства как радионуклидов, так и молекул, селективно связывающихся с молекулярной мишенью. При реабсорбции в почках радиоконъюгаты взаимодействуют с сайтами связывания, несущими заряд. Меняя заряд селективной молекулы или положение зарядов, можно влиять на накопление радиоконъюгата в почках, что было сделано в многочисленных исследованиях [21–25].

Показано влияние строения и расположения различных хелатирующих групп на биораспределение радиоконъюгатов [26–28]. В работе Н.Т. Куо et al. показано, что через 1 ч после введения радиоконъюгата удельная радиоактивность почек отличалась до 47 раз в зависимости от того, какая хелатирующая группа использовалась при мечении лигандов PSMA ^{68}Ga и от того, какой линкер использовался для ее присоединения. При этом биораспределение исследованных радиоконъюгатов в остальных органах и тканях было сопоставимо [21]. В других работах изменения в строении радиоконъюгатов приводили к менее значительному эффекту. Так, добавление гистидина и глутаминовой кислоты в состав радиоконъюгата ^{68}Ga -PSMA-11 уменьшало накопление радиоактивности в почках только в 2 раза [22]. Важное практическое значение могут иметь данные, показывающие, что наличие заряженной метки, необходимой для выделения или очистки белка, может влиять на биораспределение радиоконъюгата. Продемонстрировано, что удаление гистидиновой метки (His tag) уменьшало накопление в почках радиоконъюгатов, содержащих наноконъюгата [29, 30]. Кроме того, показано, что строение и местоположение гистидиновой метки может сильно влиять на поглощение почками радиоконъюгатов, содержащих каркасные белки [24]. В целом, результаты исследований влияния местоположения, количества и строения заряженных и/или незаряженных липофильных участков радиоконъюгатов на накопление радиоактивности в почках сильно различаются и плохо поддаются обобщению. При этом установлено, что метаболиты конъюгатов, содержащих радиоактивные галогены, как правило, быстро выводятся из почечных клеток в мочу, тогда как метаболиты, содержащие металлические радионуклиды, обычно задерживаются в лизосомальном компартменте [11]. Соответственно, использование для мечения изотопов галогенов вместо изотопов металлов приводит к

значительно более быстрому снижению радиоактивности почек после введения препарата [25, 31–35]. В опубликованных работах обсуждается возможность использования в радиоконъюгатах ^{18}F вместо ^{68}Ga при диагностике с применением ПЭТ [32, 34]. Еще одним подходом для уменьшения радиоактивности в почках является использование расщепляемых линкеров, связывающих лиганд и комплекс, содержащий радионуклид. Подобный линкер расщепляется ферментами щеточной каймы почек, такими как нейтральная эндопептидаза. После расщепления радиометаболит выводится с мочой, не задерживаясь в почках.

В литературе удалось найти несколько релевантных публикаций, где описывалось применение расщепляемых линкеров для снижения накопления в почках радиоактивно меченных фрагментов антител и пептидов. Три публикации посвящены использованию последовательностей глицил-тирозин (Gly-Tyr) и глицил-лизин (Gly-Lys) в качестве расщепляемых линкеров для меченных фрагментов антител и пептидов изотопами ^{18}F и ^{125}I [36–38]. Использование расщепляемых линкеров в этих работах снижало радиоактивность в почках до 6–8 раз.

Группа Y. Arano применила трипептидный линкер, Gly-Phe-Lys (GFK), для Fab-фрагментов против c-kit, меченных $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [39]. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ хелатировали, используя производное изоникотиновой кислоты 2-пиколлилглиина ($^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-IPG). У мышей [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-IPG-GFK-Fab показал такое же поглощение опухолью, как и [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-IPG-GK-Fab (где трипептид GFK заменен дипептидом GK): $7,65 \pm 1,77$ vs $8,50 \pm 1,54$ % ID/г через 3 ч, но значительно более низкое поглощение почками ($3,74 \pm 0,49$ vs $11,9 \pm 2,20$ % ID/г через 3 ч).

Опубликован ряд работ [40–43] по использованию расщепляемой последовательности Met-Val-Lys (MVK) в качестве линкера при мечении радиометаллами пептидов и фрагментов антител. Присутствие MVK последовательности снижало накопление радиоактивности в почках в 2–3 раза. Можно отметить, что использование расщепляемой последовательности Met-Val-Lys дало более значимые результаты, чем использование последовательности Met-Ile (MI) [40].

Одним из недавних вкладов в эту область стало исследование M. Zhang et al. [44], в котором использовали конъюгат ^{68}Ga с эксендином-4/GLP-1R, производным эксендина-4. Препарат, содержащий последовательность MVK, сравнивали с аналогичными препаратами с двумя другими последовательностями: Met-Phe-Lys (MFK) и Met-Trp-Lys (MWK). Поглощение радиоактивности привитой мышам опухолью INS-1 было сходным для тестируемых аналогов после введения последних в кровотоки. Линкеры MVK, MFK и MWK успешно снижали накопление почечной активности на 40–55 % по сравнению с контролем, при

этом линкер MWK показал лучшие результаты [44]. Интересно, что попытка использовать расщепляемую последовательность MAL (малеил-1-лизил-глицин) при мечении производного эксендина-4, NODAGA- N^{ϵ} -эксендин изотопом ^{64}Cu не привела к снижению радиоактивности в почках [45]. Важно, что включение расщепляемых линкеров в состав радиоконъюгатов не приводит к заметному изменению времени пребывания последних в крови [41, 45], что является серьезным преимуществом данного подхода по сравнению с присоединением альбумин-связывающих участков или полиэтиленгликоля.

Изменить биораспределение радиоконъюгатов можно также присоединением различных связывающих альбумин молекул. К ним относится АСД с молекулярной массой 6 КДа. Он представляет собой небольшой трехспиральный белковый домен, обнаруженный в различных поверхностных белках, экспрессируемых грамположительными бактериями [46]. Также можно использовать другие альбумин-связывающие молекулы: полипептиды, а также соединения небелковой природы, такие как краситель Эванса синий и ибупрофен. Связывание альбумина с радиоконъюгатом блокирует фильтрацию последнего через почечный фильтр в первичную мочу. Соответственно, исключается реабсорбция радиоконъюгата, что должно приводить к уменьшению накопления радиоактивности в почках.

Действительно, методом ОФЭКТ этот эффект выявлен для радиоконъюгатов Fab-фрагментов с ^{111}In после слияния с АСД [47]. При этом установлено радикальное увеличение задержки радиоактивности в крови. Аналогичные результаты были получены для наноантител против белка CD20. Присоединение к таким антителам АСД уменьшало радиоактивность почек после введения радиоконъюгата в 3–4 раза, при этом резко возросла радиоактивность крови [48].

V. Tolmachev et al. исследовали роль АСД в радиоконъюгатах аффител (одного из типов каркасных белков), имеющих молекулярную массу 7 КДа [49, 50]. Показано очень низкое накопление радиоактивности в почках после введения таких радиоконъюгатов, содержащих АСД, через 24 ч после введения мышам радиоконъюгата накопление составляло 4,3 % радиоактивности от введенной дозы на 1 г [50]. Эта работа интересна тем, что показывает важность подбора правильного дизайна радиоконъюгата, содержащего АСД, поскольку в зависимости от строения молекулы накопление в почках различалось в 2–3 раза. В приведенной выше работе лучшие результаты были получены при использовании АСД₀₃₅, который был целенаправленно получен и исследован в более ранней статье [51]. Проведено исследование накопления в почках меченного ^{111}In каркасного белка, аффинного к HER2, с присоединенными токсич-

ными пептидами, полученными из эндотоксина *A. pseudomonas*. Установлено, что включение в состав данного радиокоњуогата АСД уменьшало накопление радиоактивности в почках в 2,2 раза через 4 ч после введения. При этом удельная радиоактивность крови увеличивалась в 16 раз [52].

В последнее время опубликован ряд работ, в которых исследованы содержащие альбумин-связывающие участки радиокоњуогаты различных лигандов с молекулярной массой менее 5 КДа [53–58]. Нужно отметить, что в некоторых исследованиях пептидных радиокоњуогатов (пептида, связывающего интегрин $\alpha_v\beta_6$, и лигандов PSMA) присоединение к препарату связывающегося с альбумином пептида приводит к увеличению радиоактивности почек, очевидно, из-за многократно увеличенного времени циркуляции таких радиокоњуогатов в крови [54–57]. При этом радиокоњуогаты, способные связываться с альбумином, сильнее накапливались в опухолях, чем контрольные. В клиническом исследовании отмечено, что у пациентов поглощенная доза радиоактивности в почках увеличилась в 6 раз после присоединения к радиокоњуогату ^{177}Lu -PSMA-617 связывающей альбумин молекулы красителя Эванса синего [56]. При исследовании радиокоњуогата пептидного лиганда рецептора GLP-1 эксендин-4 с ^{111}In присутствие альбумин-связывающего участка уменьшало радиоактивность почек в 6 раз через 4 ч после введения метки в кровь мышей. При этом задержка радиоактивности в крови увеличивалась в 52 раза, а накопление в опухоли уменьшалось в 1,7 раза [53]. Показано, что биораспределение радиокоњуогатов лигандов с низкой молекулярной массой, получивших способность связываться с альбумином, очень сильно зависит от строения молекул. Так, замена линкера, присоединяющего альбумин-связывающий участок в составе радиокоњуогата ^{177}Lu -PSMA-617, меняла накопление радиоактивности в 1 г ткани почек от 51,9 до 10,9 % от дозы, введенной мышам за 24 ч до измерения. Отношения радиоактивностей опухоль/кровь также варьировали от 17 до 46 в зависимости от строения линкера [55]. В другой работе радиокоњуогат ^{177}Lu -Ibu-DAB-PSMA, в котором ибупрофен, связывающий альбумин, был коњуогирован через положительно заряженную диаминомасляную кислоту, продемонстрировал более благоприятные отношения радиоактивностей опухоль/кровь и опухоль/почка по сравнению с радиокоњуогатом, полученным коњуогацией через другие линкеры [58].

Представленные данные показывают, что способность связывать альбумин приводит к снижению радиоактивности в почках при введении в кровь радиокоњуогатов на основе относительно крупных белковых молекул, таких как Fab-фрагменты и каркасные белки. Однако присоединение альбумин-связывающих участков

к радиокоњуогатам на основе лигандов, имеющих молекулярный вес менее 5 КДа, может приводить к увеличению задержки радиоактивности в почках после введения таких препаратов.

Связывание различных белков и пептидов с полиэтиленгликолем (пэгилирование), включая фрагменты антител, используется для уменьшения почечного клиренса этих молекул и задержки их пребывания в кровотоке [59–64]. Эффект достигается за счет увеличения молекулярной массы выше порога почечной фильтрации, а также благодаря снижению протеолиза. M. Rashidian et al. [61] исследовали эффект присоединения полиэтиленгликоля к меченным ^{89}Zr наноантителам против белка CD8 Т-лимфоцитов. Проводилось сайт-специфическое присоединение остатков ПЭГ массой 5, 10 или 20 кДа с участием фермента сортазы. Присоединение остатка ПЭГ массой 20 КДа уменьшало накопление в почках в 4 раза после введения препарата в кровь мышей. Присоединение остатков ПЭГ с меньшей массой вызывало более слабый эффект. Однако при этом увеличивалась задержка радиоактивности в сердечной мышце, что должно быть связано с увеличением времени пребывания радиокоњуогата в крови. Радиоактивность сердца падала в два раза в среднем за 6,9 мин, если радиокоњуогат не содержал остатков ПЭГ. При присоединении остатков ПЭГ массой 5 КДа к молекулам радиокоњуогата подобное падение происходило за 18,6 мин, при присоединении остатков массой 10 кДа – за 35,0 мин, при присоединении остатков массой 20 кДа – за 183,2 мин. Очевидно, что пэгилирование радиоактивно меченных наноантител к CD8 приводит к уменьшению их накопления в почках и одновременно с этим резко увеличивает их задержку в кровотоке. В других работах также показано, что задержка радиоактивности в крови и величина ее накопления в привитой мышам опухоли прямо пропорциональны массе присоединенного ПЭГ, а величина накопления радиоактивности в почках имеет обратную зависимость [63, 64]. Подобный эффект давало пэгилирование меченных ^{111}In двухвалентных диател против TAG-72 с молекулярной массой 52,5 кДа. Наибольший эффект достигался при использовании пэгилированных меченых диател против TAG-72 с молекулярной массой 70 кДа, у диател с массой 60 кДа эффект был меньше [64]. Это подтверждает возможность подбора необходимых свойств пэгилированных радиокоњуогатов при их конструировании.

Претаргетинг

Еще одним подходом, используемым для улучшения биораспределения РФП, является метод претаргетинга, или предварительного нацеливания. При использовании этого метода образование комплекса «антитело – радионуклид» происходит внутри организма. На первом этапе человеку вводят специфичные для мишени антитела или их

фрагменты. После связывания этих антител с целевыми антигенами (мишенями) и удаления из крови несвязавшихся вводится радионуклид. Последний соединяется с антителами, что позволяет провести диагностику или терапию опухолевого заболевания. Применение такого подхода позволяет уменьшить время циркулирования радионуклида в крови и его накопление в органах, что должно снизить радиационное облучение и увеличить контрастность изображения при терапии и диагностике с использованием ПЭТ или ОФЭКТ.

Для претаргетинга обычным является использование бифункциональных или мультифункциональных антител. При этом антитело имеет сродство к целевому антигену и к комплексу «гаптен – радионуклид» [65–67]. Также распространено и применение пары стрептавидин – биотин для образования связи между антителом или его фрагментом и радионуклидом внутри организма [68–71]. В последнее десятилетие для претаргетинга используются каркасные белки [72, 73], гибридизация комплементарных олигонуклеотидов [74, 75] и клик-химия [76, 77].

Использование претаргетинга позволяет добиться низкого накопления радиоактивности в почках при применении в качестве радиофармпрепаратов молекул с молекулярной массой меньше 70 кДа. При использовании олигонуклеотидных зондов, меченных ^{177}Lu , для претаргетинга, опосредованного каркасными белками, подобная относительная радиоактивность почек мышей не превышала 10–15 % на 1 г веса через 4 ч после инъекции [78]. Результат является типичным при претаргетинге независимо от того, какие молекулы используются для связывания с мишенью. При использовании предварительного нацеливания максимальное накопление радиоактивности в почках обычно составляет от 1–2 до 15 % на 1 г веса органа от введенной дозы [76, 79, 80]. При этом накопление радиоактивности в опухоли, несущей целевой антиген, может быть заметно выше, чем в почках [76, 80].

Претаргетинг выглядит очень перспективным для улучшения биораспределения РФП. Однако пока он не нашел широкого применения в клинической практике, несмотря на более чем 30-летнюю историю исследований [81, 82]. Претаргетинг является многоэтапным процессом, что делает его разработку сложной и дорогостоящей, метод требует тщательной оптимизации как для разработки бифункциональных антител и малых молекул, переносящих

радионуклид, так и для определения временных графиков введения и дозирования. Для его использования в рутинной практике необходимо проведение масштабных клинических исследований.

Заключение

Из представленных подходов к снижению накопления радиоактивности в почках при радиолигандной терапии с использованием молекул, способных проходить через почечный фильтр, наиболее простым является введение радиоконъюгатов вместе с сопутствующими веществами. Этот метод не требует предварительной работы по модификации радиоконъюгата и выглядит более универсальным, не зависящим от особенностей того или иного радиофармпрепарата. Несмотря на ограниченную эффективность, пока только этот подход нашел свое применение в клинической практике для улучшения биораспределения таргетных радиофармпрепаратов.

Создание модифицированных радиоконъюгатов с приемлемым биораспределением, включая малое накопление в почках, представляется более практичным для клинического использования. Изменение самих радиоконъюгатов позволяет радикально снизить накопление радиоактивности в почках, однако такие модификации, как пегилирование и присоединение альбумин-связывающего домена или участка, уменьшая радиоактивность почек после введения радиоконъюгата, увеличивают время циркуляции последнего в крови. Такое изменение свойств препарата может быть нежелательным для использования в клинике. Необходимо также отметить, что для модификации свойств радиоконъюгатов трудно найти общие пути, модификация каждого радиоконъюгата может требовать своего решения. Возможно, среди подходов, связанных с изменением строения радиоконъюгатов, наиболее перспективным для уменьшения накопления радиоактивности в почках является использование расщепляемых при реабсорбции линкеров. Ценно, что этот способ не меняет время присутствия радиоконъюгатов в крови.

Претаргетинг, очевидно, является наиболее интересным и сложным подходом для улучшения биораспределения радиоактивно меченных молекул, способных специфически связываться с белками. Для его внедрения в практику необходимо решение многих задач, стоящих перед разработчиками.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Cyprine Neba Funeh C.N., Asiabi P., D'Huyvetter M., Devoogdt N.* Case Study #3: Antibody Fragments in Radiopharmaceutical Therapy. Radiopharmaceutical Therapy. PP. 253–273. doi: 10.1007/978-3-031-39005-0_12.
2. *Kuna M., Mahdi F., Chade A.R., Bidwell G.L.* 3rd. Molecular Size Modulates Pharmacokinetics, Biodistribution, and Renal Deposition of the Drug Delivery Biopolymer Elastin-like Polypeptide. Sci Rep. 2018; 8(1): 7923. doi: 10.1038/s41598-018-24897-9.

3. *Wittrup K.D., Thurber G.M., Schmidt M.M., Rhoden J.J.* Practical theoretic guidance for the design of tumor-targeting agents. Methods Enzymol. 2012; 503: 255–68. doi: 10.1016/B978-0-12-396962-0.00010-0.
4. *Schmidt M.M., Wittrup K.D.* A modeling analysis of the effects of molecular size and binding affinity on tumor targeting. Mol Cancer Ther. 2009; 8(10): 2861–71. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0195.
5. *Vivier D., Sharma S.K., Adumeau P., Rodriguez C., Fung K., Zeglis B.M.* The Impact of FcγRI Binding on Immuno-PET. J Nucl Med. 2019; 60(8): 1174–82. doi: 10.2967/jnumed.118.223636.

6. Vivier D., Fung K., Rodriguez C., Adumeau P., Ulaner G.A., Lewis J.S., Sharma S.K., Zeglis B.M. The Influence of Glycans-Specific Bioconjugation on the FcγRI Binding and In vivo Performance of 89Zr-DFO-Pertuzumab. *Theranostics*. 2020; 10(4): 1746–57. doi: 10.7150/thno.39089.
7. Behr T.M., Goldenberg D.M., Becker W. Reducing the renal uptake of radiolabeled antibody fragments and peptides for diagnosis and therapy: present status, future prospects and limitations. *Eur J Nucl Med*. 1998; 25(2): 201–12. doi: 10.1007/s002590050216.
8. Vegt E., de Jong M., Wetzels J.F., Masereeuw R., Melis M., Oyen W.J., Gotthardt M., Boerman O.C. Renal toxicity of radiolabeled peptides and antibody fragments: mechanisms, impact on radionuclide therapy, and strategies for prevention. *J Nucl Med*. 2010; 51(7): 1049–58. doi: 10.2967/jnumed.110.075101.
9. Pimm M.V., Gribben S.J. Prevention of renal tubule re-absorption of radiometal (indium-111) labelled Fab fragment of a monoclonal antibody in mice by systemic administration of lysine. *Eur J Nucl Med*. 1994; 21(7): 663–5. doi: 10.1007/BF00285590.
10. Behr T.M., Becker W.S., Sharkey R.M., Jurweid M.E., Dunn R.M., Bair H.J., Wolf F.G., Goldenberg D.M. Reduction of renal uptake of monoclonal antibody fragments by amino acid infusion. *J Nucl Med*. 1996; 37(5): 829–33.
11. Chigoho D.M., Bridoux J., Hernot S. Reducing the renal retention of low- to moderate-molecular-weight radiopharmaceuticals. *Curr Opin Chem Biol*. 2021; 63: 219–28. doi: 10.1016/j.cbpa.2021.06.008.
12. Xiong C., Yin D., Li J., Huang Q., Ravoori M.K., Kundra V., Zhu H., Ang Z., Lu Y., Li C. Metformin Reduces Renal Uptake of Radiotracers and Protects Kidneys from Radiation-Induced Damage. *Mol Pharm*. 2019; 16(2): 808–15. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b01091.
13. Gaikam L.O., Cavelliers V., Devoogdt N., Vanhove C., Xavier C., Boerman O., Muyldermans S., Bossuyt A., Lahoutte T. Localization, mechanism and reduction of renal retention of technetium-99m labeled epidermal growth factor receptor-specific nanobody in mice. *Contrast Media Mol Imaging*. 2011; 6(2): 85–92. doi: 10.1002/cmmi.408.
14. van Eerd J.E., Vegt E., Wetzels J.F., Russel F.G., Masereeuw R., Corstens F.H., Oyen W.J., Boerman O.C. Gelatin-based plasma expander effectively reduces renal uptake of ¹¹¹In-octreotide in mice and rats. *J Nucl Med*. 2006; 47(3): 528–33.
15. Briat A., Wenk C.H., Ahmadi M., Claron M., Boturyn D., Joserand V., Dumy P., Fagret D., Coll J.L., Ghezzi C., Sancey L., Vuillez J.P. Reduction of renal uptake of ¹¹¹In-DOTA-labeled and A700-labeled RAFT-RGD during integrin αvβ3 targeting using single photon emission computed tomography and optical imaging. *Cancer Sci*. 2012; 103(6): 1105–10. doi: 10.1111/j.1349-7006.2012.02286.x.
16. Melis M., Bijster M., de Visser M., Konijnenberg M.W., de Swart J., Rolleman E.J., Boerman O.C., Krenning E.P., de Jong M. Dose-response effect of Gelofusine on renal uptake and retention of radiolabelled octreotate in rats with CA20948 tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009; 36(12): 1968–76. doi: 10.1007/s00259-009-1196-8.
17. Chatalic K.L., Heskamp S., Konijnenberg M., Molkenboer-Kuennen J.D., Franssen G.M., Clahsen-van Groningen M.C., Schottelius M., Wester H.J., van Weerden W.M., Boerman O.C., de Jong M. Towards Personalized Treatment of Prostate Cancer: PSMA I&T, a Promising Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Theranostic Agent. *Theranostics*. 2016; 6(6): 849–61. doi: 10.7150/thno.14744.
18. Matteucci F., Mezzenga E., Caroli P., Di Iorio V., Sarnelli A., Celli M., Fantini L., Moretti A., Galassi R., De Giorgi U., Paganelli G. Reduction of ⁶⁸Ga-PSMA renal uptake with mannitol infusion: preliminary results. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017; 44(13): 2189–94. doi: 10.1007/s00259-017-3791-4.
19. Altai M., Garousi J., Rinne S.S., Schulga A., Deyev S., Vorobyeva A. On the prevention of kidney uptake of radiolabeled DARpins. *EJNMMI Res*. 2020; 10(1): 7. doi: 10.1186/s13550-020-0599-1.
20. Vorobyeva A., Oroujeni M., Lindbo S., Hober S., Xu T., Liu Y., Rinne S.S., Garousi J. Investigation of a Pharmacological Approach for Reduction of Renal Uptake of Radiolabeled ADAPT Scaffold Protein. *Molecules*. 2020; 25(19): 4448. doi: 10.3390/molecules25194448.
21. Kuo H.T., Pan J., Zhang Z., Lau J., Merckens H., Zhang C., Colpo N., Lin K.S., Bénard F. Effects of Linker Modification on Tumor-to-Kidney Contrast of ⁶⁸Ga-Labeled PSMA-Targeted Imaging Probes. *Mol Pharm*. 2018; 15(8): 3502–11. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00499.
22. Baranski A.C., Schäfer M., Bauder-Wüst U., Wacker A., Schmidt J., Liolios C., Mier W., Haberkorn U., Eisenhut M., Kopka K., Eder M. Improving the Imaging Contrast of ⁶⁸Ga-PSMA-11 by Targeted Linker Design: Charged Spacer Moieties Enhance the Pharmacokinetic Properties. *Bioconjug Chem*. 2017; 28(9): 2485–92. doi: 10.1021/acs.bioconjugchem.7b00458.
23. Flook A.M., Yang J., Miao Y. Substitution of the Lys linker with the β-Ala linker dramatically decreased the renal uptake of ^{99m}Tc-labeled Arg-X-Asp-conjugated and X-Ala-Asp-conjugated α-melanocyte stimulating hormone peptides. *J Med Chem*. 2014; 57(21): 9010–8. doi: 10.1021/jm501114v.
24. Hofström C., Altai M., Honarvar H., Strand J., Malmberg J., Hosseinimehr S.J., Orlova A., Gräslund T., Tolmachev V. HAHAA, HEHEHE, HHHH, or HKHKHK: influence of position and composition of histidine containing tags on biodistribution of [^{99m}Tc(CO)₃](+) labeled affibody molecules. *J Med Chem*. 2013; 56(12): 4966–74. doi: 10.1021/jm400218y.
25. Strand J., Nordeman P., Honarvar H., Altai M., Orlova A., Larhed M., Tolmachev V. Site-Specific Radioiodination of HER2-Targeting Affibody Molecules using 4-Iodophenethylmaleimide Decreases Renal Uptake of Radioactivity. *ChemistryOpen*. 2015; 4(2): 174–82. doi: 10.1002/open.201402097.
26. Ekblad T., Tran T., Orlova A., Widström C., Feldwisch J., Abrahmsen L., Wennborg A., Karlström A.E., Tolmachev V. Development and preclinical characterisation of ^{99m}Tc-labelled Affibody molecules with reduced renal uptake. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008; 35(12): 2245–55. doi: 10.1007/s00259-008-0845-7.
27. Guo H., Yang J., Gallazzi F., Prossnitz E.R., Sklar L.A., Miao Y. Effect of DOTA position on melanoma targeting and pharmacokinetic properties of ¹¹¹In-labeled lactam bridge-cyclized alpha-melanocyte stimulating hormone peptide. *Bioconjug Chem*. 2009; 20(11): 2162–8. doi: 10.1021/bc9003475.
28. Mitran B., Thisgaard H., Rinne S., Dam J.H., Azami F., Tolmachev V., Orlova A., Rosenström U. Selection of an optimal macrocyclic chelator improves the imaging of prostate cancer using cobalt-labeled GRPR antagonist RM26. *Sci Rep*. 2019; 9(1). doi: 10.1038/s41598-019-52914-y.
29. Chatalic K.L., Veldhoven-Zweistra J., Bolkestein M., Hoebe S., Koning G.A., Boerman O.C., de Jong M., van Weerden W.M. A Novel ¹¹¹In-Labeled Anti-Prostate-Specific Membrane Antigen Nanobody for Targeted SPECT/CT Imaging of Prostate Cancer. *J Nucl Med*. 2015; 56(7): 1094–9. doi: 10.2967/jnumed.115.156729.
30. D'Huyvetter M., Vincke C., Xavier C., Aerts A., Impens N., Baatout S., De Raeye H., Muyldermans S., Cavelliers V., Devoogdt N., Lahoutte T. Targeted radionuclide therapy with A ¹⁷⁷Lu-labeled anti-HER2 nanobody. *Theranostics*. 2014; 4(7): 708–20. doi: 10.7150/thno.8156.
31. Duncan J.R., Behr T.M., DeNardo S.J. Intracellular fate of radiometals. *J Nucl Med*. 1997; 38(5): 829.
32. Dietlein M., Kobe C., Kuhnert G., Stockter S., Fischer T., Schomäcker K., Schmidt M., Dietlein F., Zlatopolskiy B.D., Krapf P., Richarz R., Neubauer S., Drzezga A., Neumaier B. Comparison of [¹⁸F]DCFPyL and [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-HBED-CC for PSMA-PET Imaging in Patients with Relapsed Prostate Cancer. *Mol Imaging Biol*. 2015; 17(4): 575–84. doi: 10.1007/s11307-015-0866-0.
33. Bala G., Crauwels M., Blykers A., Remory I., Marschall A.L.J., Dübel S., Dumas L., Broisat A., Martin C., Ballet S., Cosyns B., Cavelliers V., Devoogdt N., Xavier C., Hernot S. Radiometal-labeled anti-VCAM-1 nanobodies as molecular tracers for atherosclerosis – impact of radiochemistry on pharmacokinetics. *Biol Chem*. 2019; 400(3): 323–32. doi: 10.1515/hsz-2018-0330.
34. Maschauer S., Einsiedel J., Hübner H., Gmeiner P., Prante O. (18) F- and (68) Ga-Labeled Neurotensin Peptides for PET Imaging of Neurotensin Receptor 1. *J Med Chem*. 2016; 59(13): 6480–92. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00675.
35. Potemkin R., Strauch B., Kuwert T., Prante O., Maschauer S. Development of 18F-Fluoroglycosylated PSMA-Ligands with Improved Renal Clearance Behavior. *Mol Pharm*. 2020; 17(3): 933–43. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b01179.
36. Akizawa H., Imajima M., Hanaoka H., Uehara T., Satake S., Arano Y. Renal brush border enzyme-cleavable linkages for low renal radioactivity levels of radiolabeled antibody fragments. *Bioconjug Chem*. 2013; 24(2): 291–9. doi: 10.1021/bc300428b.
37. Zhou Z., Devoogdt N., Zalutsky M.R., Vaidyanathan G. An Efficient Method for Labeling Single Domain Antibody Fragments with 18F Using Tetrazine-Trans-Cyclooctene Ligation and a Renal Brush Border Enzyme-Cleavable Linker. *Bioconjug Chem*. 2018; 29(12): 4090–103. doi: 10.1021/acs.bioconjugchem.8b00699.
38. Vaidyanathan G., Kang C.M., McDougald D., Minn I., Brummet M., Pomper M.G., Zalutsky M.R. Brush border enzyme-cleavable linkers: Evaluation for reducing renal uptake of radiolabeled prostate-specific membrane antigen inhibitors. *Nucl Med Biol*. 2018; 62–63: 18–30. doi: 10.1016/j.nucmedbio.2018.05.002.
39. Suzuki C., Uehara T., Kanazawa N., Wada S., Suzuki H., Arano Y. Preferential Cleavage of a Tripeptide Linkage by Enzymes on Renal Brush Border Membrane To Reduce Renal Radioactivity Levels of Radiolabeled Antibody Fragments. *J Med Chem*. 2018; 61(12): 5257–68. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b00198.
40. Uehara T., Yokoyama M., Suzuki H., Hanaoka H., Arano Y. A Gallium-67/⁶⁸ Ga-Labeled Antibody Fragment for Immuno-SPECT/PET Shows Low Renal Radioactivity Without Loss of Tumor Uptake. *Clin Cancer Res*. 2018; 24(14): 3309–16. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0123.
41. Zhang M., Jacobson O., Kiesewetter D.O., Ma Y., Wang Z., Lang L., Tang L., Kang F., Deng H., Yang W., Niu G., Wang J., Chen X.

Improving the Theranostic Potential of Exendin 4 by Reducing the Renal Radioactivity through Brush Border Membrane Enzyme-Mediated Degradation. *Bioconjug Chem.* 201; 30(6): 1745–53. doi: 10.1021/acs.bioconjugchem.9b00280.

42. Bendre S, Zhang Z, Kuo H.T, Rousseau J, Zhang C, Merckens H, Roxin A, Bénard F, Lin K.S. Evaluation of Met-Val-Lys as a Renal Brush Border Enzyme-Cleavable Linker to Reduce Kidney Uptake of 68Ga-Labeled DOTA-Conjugated Peptides and Peptidomimetics. *Molecules.* 2020; 25(17): 3854. doi: 10.3390/molecules25173854.

43. Suzuki H, Kise S, Kaizuka Y, Watanabe R, Sugawa T, Furukawa T, Fujii H, Uehara T. Copper-64-Labeled Antibody Fragments for Immuno-PET/Radioimmunotherapy with Low Renal Radioactivity Levels and Amplified Tumor-Kidney Ratios. *ACS Omega.* 2021; 6(33): 21556–62. doi: 10.1021/acsomega.1c02516.

44. Zhang M, Ye J, Xie Z, Yan Y, Wang J, Chen X. Optimization of Enzymolysis Clearance Strategy To Enhance Renal Clearance of Radioligands. *Bioconjug Chem.* 2021; 32(9): 2108–16. doi: 10.1021/acs.bioconjugchem.1c00392.

45. Yim C.B., Mikkola K., Fagerholm V., Elomaa V.V., Ishizu T., Rajander J., Schlesinger J., Roivainen A., Nuutila P., Solin O. Synthesis and preclinical characterization of [64Cu]NODAGA-MAL-exendin-4 with a Nε-maleoyl-L-lysyl-glycine linkage. *Nucl Med Biol.* 2013; 40(8): 1006–12. doi: 10.1016/j.nucmedbio.2013.06.012.

46. Nilvebrant J., Hober S. The albumin-binding domain as a scaffold for protein engineering. *Comput Struct Biotechnol J.* 2013. doi: 10.5936/csbj.201303009.

47. Dennis M.S., Jin H., Dugger D., Yang R., McFarland L., Ogasawara A., Williams S., Cole M.J., Ross S., Schwall R. Imaging tumors with an albumin-binding Fab, a novel tumor-targeting agent. *Cancer Res.* 2007; 67(1): 254–61. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2531.

48. Krasniqi A., Bialkowska M., Xavier C., van der Jeught K., Muyldermans S., Devoogdt N., D'Huyvetter M. Pharmacokinetics of radiolabeled dimeric sdAbs constructs targeting human CD20. *N Biotechnol.* 2018; 45: 69–79. doi: 10.1016/j.nbt.2018.03.004.

49. Tolmachev V., Orlova A., Pehrson R., Galli J., Baastrup B., Andersson K., Sandström M., Rosik D., Carlsson J., Lundqvist H., Wennborg A., Nilsson F.Y. Radionuclide therapy of HER2-positive microxenografts using a 177Lu-labeled HER2-specific Affibody molecule. *Cancer Res.* 2007; 67(6): 2773–82. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1630.

50. Orlova A., Jonsson A., Rosik D., Lundqvist H., Lindborg M., Abrahmsen L., Ekblad C., Frejd F.Y., Tolmachev V. Site-specific radiometal labeling and improved biodistribution using ABY-027, a novel HER2-targeting affibody molecule-albumin-binding domain fusion protein. *J Nucl Med.* 2013; 54(6): 961–8. doi: 10.2967/jnumed.112.110700.

51. Jonsson A., Dogan J., Herne N., Abrahmsen L., Nygren P.A. Engineering of a femtomolar affinity binding protein to human serum albumin. *Protein Eng Des Sel.* 2008; 21(8): 515–27. doi: 10.1093/protein/gzn028.

52. Liu H., Lindbo S., Ding H., Altai M., Garousi J., Orlova A., Tolmachev V., Hober S., Gräslund T. Potent and specific fusion toxins consisting of a HER2-binding, ABD-derived affinity protein, fused to truncated versions of Pseudomonas exotoxin A. *Int J Oncol.* 2019; 55(1): 309–19. doi: 10.3892/ijo.2019.4814.

53. Kaeppli S.A.M., Jodal A., Gotthardt M., Schibli R., Béhé M. Exendin-4 Derivatives with an Albumin-Binding Moiety Show Decreased Renal Retention and Improved GLP-1 Receptor Targeting. *Mol Pharm.* 2019; 16(9): 3760–9. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b00271.

54. Davis R.A., Hausner S.H., Harris R., Sutcliffe J.L. A Comparison of Evans Blue and 4-(p-Iodophenyl)butyryl Albumin Binding Moieties on an Integrin αvβ6 Binding Peptide. *Pharmaceutics.* 2022; 14(4): 745. doi: 10.3390/pharmaceutics14040745.

55. Benešová M., Umbricht C.A., Schibli R., Müller C. Albumin-Binding PSMA Ligands: Optimization of the Tissue Distribution Profile. *Mol Pharm.* 2018; 15(3): 934–46. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00877.

56. Zang J., Fan X., Wang H., Liu Q., Wang J., Li H., Li F., Jacobson O., Niu G., Zhu Z., Chen X. First-in-human study of 177Lu-EB-PSMA-617 in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2019; 46(1): 148–58. doi: 10.1007/s00259-018-4096-y.

57. Wang Z., Tian R., Niu G., Ma Y., Lang L., Szajek L.P., Kiesewetter D.O., Jacobson O., Chen X. Single Low-Dose Injection of Evans Blue Modified PSMA-617 Radioligand Therapy Eliminates Prostate-Specific Membrane Antigen Positive Tumors. *Bioconjug Chem.* 2018; 29(9): 3213–21. doi: 10.1021/acs.bioconjugchem.8b00556.

58. Deberle L.M., Benešová M., Umbricht C.A., Borgna F., Büchler M., Zheronosekov K., Schibli R., Müller C. Development of a new class of PSMA radioligands comprising ibuprofen as an albumin-binding entity. *Theranostics.* 2020; 10(4): 1678–93. doi: 10.7150/thno.40482.

59. Chapman A.P. PEGylated antibodies and antibody fragments for improved therapy: a review. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002; 54(4): 531–45. doi: 10.1016/s0169-409x(02)00026-1.

60. Koussoroplis S.J., Paulissen G., Tyteca D., Goldansaz H., Todoroff J., Barilly C., Uyttenhove C., Van Snick J., Cataldo D., Vanbever R.

PEGylation of antibody fragments greatly increases their local residence time following delivery to the respiratory tract. *J Control Release.* 2014; 187: 91–100. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.05.021.

61. Rashidian M., Ingram J.R., Dougan M., Dongre A., Whang K.A., LeGall C., Cragnolini J.J., Bieri B., Gostissa M., Gorman J., Grotenbreg G.M., Bhan A., Weinberg R.A., Ploegh H.L. Predicting the response to CTLA-4 blockade by longitudinal noninvasive monitoring of CD8 T cells. *J Exp Med.* 2017; 214(8): 2243–55. doi: 10.1084/jem.20161950.

62. Kang J.S., Deluca P.P., Lee K.C. Emerging PEGylated drugs. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2009; 14(2): 363–80. doi: 10.1517/14728210902907847.

63. Li L., Crow D., Turatti F., Bading J.R., Anderson A.L., Poku E., Yazaki P.J., Carmichael J., Leong D., Wheatcroft D., Raubitschek A.A., Hudson P.J., Colcher D., Shively J.E. Site-specific conjugation of monodispersed DOTA-PEGn to a thiolated diabody reveals the effect of increasing peg size on kidney clearance and tumor uptake with improved 64-copper PET imaging. *Bioconjug Chem.* 2011; 22(4): 709–16. doi: 10.1021/bc100464e. Erratum in: *Bioconjug Chem.* 2011; 22(6): 1256. Wheatcroft, Michael P [corrected to Wheatcroft, David].

64. Li L., Turatti F., Crow D., Bading J.R., Anderson A.L., Poku E., Yazaki P.J., Williams L.E., Tamvakis D., Sanders P., Leong D., Raubitschek A.A., Hudson P.J., Colcher D., Shively J.E. Monodispersed DOTA-PEG-conjugated anti-TAG-72 diabody has low kidney uptake and high tumor-to-blood ratios resulting in improved 64Cu PET. *J Nucl Med.* 2010; 51(7): 1139–46. doi: 10.2967/jnumed.109.074153.

65. Stickney D.R., Anderson L.D., Slater J.B., Ahlem C.N., Kirk G.A., Schweighardt S.A., Frincke J.M. Bifunctional antibody: a binary radiopharmaceutical delivery system for imaging colorectal carcinoma. *Cancer Res.* 1991; 51(24): 6650–5.

66. Barbet J., Peltier P., Bardet S., Vuillez J.P., Bachelot L., Denet S., Olivier P., Leccia F., Corcuff B., Huglo D., Proye C., Rouvier E., Meyer P., Chatal J.F. Radioimmunodetection of medullary thyroid carcinoma using indium-111 bivalent hapten and anti-CEA x anti-DTPA-indium bispecific antibody. *J Nucl Med.* 1998; 39(7): 1172–8.

67. Sharkey R.M., Karacay H., Litwin S., Rossi E.A., McBride W.J., Chang C.H., Goldenberg D.M. Improved therapeutic results by pretargeted radioimmunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a new recombinant, trivalent, anti-CD20, bispecific antibody. *Cancer Res.* 2008; 68(13): 5282–90. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0037.

68. Hnatowich D.J., Virzi F., Rusckowski M. Investigations of avidin and biotin for imaging applications. *J Nucl Med.* 1987; 28(8): 1294–302.

69. Weiden P.L., Breit H.B., Press O., Appelbaum J.W., Bryan J.K., Gaffigan S., Stone D., Axworthy D., Fisher D., Reno J. Pretargeted radioimmunotherapy (PRIT) for treatment of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): initial phase I/II study results. *Cancer Biother Radiopharm.* 2000; 15(1): 15–29. doi: 10.1089/cbr.2000.15.15.

70. Breit H.B., Fisher D.R., Goris M.L., Knox S., Ratliff B., Murtha A.D., Weiden P.L. Radiation absorbed dose estimation for 90Y-DOTA-biotin with pretargeted NR-LU-10/streptavidin. *Cancer Biother Radiopharm.* 1999; 14(5): 381–95. doi: 10.1089/cbr.1999.14.381.

71. Green D.J., Frayo S.L., Lin Y., Hamlin D.K., Fisher D.R., Frost S.H., Kenoyer A.L., Hylarides M.D., Gopal A.K., Gooley T.A., Orozco J.J., Till B.G., O'Steen S., Orcutt K.D., Wilbur D.S., Wittrup K.D., Press O.W. Comparative Analysis of Bispecific Antibody and Streptavidin-Targeted Radioimmunotherapy for B-cell Cancers. *Cancer Res.* 2016; 76(22): 6669–79. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0571.

72. Westerlund K., Altai M., Mitran B., Konijnenberg M., Oroujeni M., Atterby C., de Jong M., Orlova A., Mattsson J., Mücke P., Karlström A.E., Tolmachev V. Radionuclide Therapy of HER2-Expressing Human Xenografts Using Affibody-Based Peptide Nucleic Acid-Mediated Pretargeting: In Vivo Proof of Principle. *J Nucl Med.* 2018; 59(7): 1092–8. doi: 10.2967/jnumed.118.208348.

73. Altai M., Perols A., Tsourma M., Mitran B., Honarvar H., Robillard M., Rossin R., ten Hoeve W., Lubberink M., Orlova A., Karlström A.E., Tolmachev V. Feasibility of Affibody-Based Bioorthogonal Chemistry-Mediated Radionuclide Pretargeting. *J Nucl Med.* 2016; 57(3): 431–6. doi: 10.2967/jnumed.115.162248.

74. Leonidova A., Foerster C., Zarschler K., Schubert M., Pietzsch H.J., Steinbach J., Bergmann R., Metzler-Nolte N., Stephan H., Gasser G. In vivo demonstration of an active tumor pretargeting approach with peptide nucleic acid bioconjugates as complementary system. *Chem Sci.* 2015; 6(10): 5601–16. doi: 10.1039/c5sc00951k.

75. Westerlund K., Honarvar H., Tolmachev V., Eriksson Karlström A. Design, Preparation, and Characterization of PNA-Based Hybridization Probes for Affibody-Molecule-Mediated Pretargeting. *Bioconjug Chem.* 2015; 26(8): 1724–36. doi: 10.1021/acs.bioconjugchem.5b00292.

76. Poty S., Carter L.M., Mandleywala K., Membreno R., Abdel-Atti D., Ragupathi A., Scholz W.W., Zeglis B.M., Lewis J.S. Leveraging Bioorthogonal Click Chemistry to Improve 225Ac-Radioimmunotherapy of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2019; 25(2): 868–80. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1650.

77. Timperanza C., Jensen H., Bäck T., Lindegren S., Aneheim E. Pretargeted Alpha Therapy of Disseminated Cancer Combining Click Chemistry and Astatine-211. *Pharmaceuticals* (Basel). 2023; 16(4): 595. doi: 10.3390/ph16040595.
78. Tano H., Oroujeni M., Vorobyeva A., Westerlund K., Liu Y., Xu T., Vasconcelos D., Orlova A., Karlström A.E., Tolmachev V. Comparative Evaluation of Novel ¹⁷⁷Lu-Labeled PNA Probes for Affibody-Mediated PNA-Based Pretargeting. *Cancers* (Basel). 2021; 13(3): 500. doi: 10.3390/cancers13030500.
79. Su F.M., Beaumier P., Axworthy D., Atcher R., Fritzberg A. Pretargeted radioimmunotherapy in tumored mice using an in vivo ²¹²Pb/²¹²Bi generator. *Nucl Med Biol.* 2005; 32(7): 741–7. doi: 10.1016/j.nucmedbio.2005.06.009.
80. Heskamp S., Hernandez R., Molkenboer-Kuenen J.D.M., Essler M., Bruchertseifer F., Morgenstern A., Steenbergen E.J., Cai W., Seidl C., McBride W.J., Goldenberg D.M., Boerman O.C. α -Versus β -Emitting Radionuclides for Pretargeted Radioimmunotherapy of Carcinoembryonic Antigen-Expressing Human Colon Cancer Xenografts. *J Nucl Med.* 2017; 58(6): 926–33. doi: 10.2967/jnumed.116.187021.
81. Altai M., Membreno R., Cook B., Tolmachev V., Zeglis B.M. Pretargeted Imaging and Therapy. *J Nucl Med.* 2017; 58(10): 1553–9. doi: 10.2967/jnumed.117.189944.
82. Cheal S.M., Chung S.K., Vaughn B.A., Cheung N.V., Larson S.M. Pretargeting: A Path Forward for Radioimmunotherapy. *J Nucl Med.* 2022; 63(9): 1302–15. doi: 10.2967/jnumed.121.262186.

Поступила/Received 25.04.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 29.07.2024

Принята к публикации/Accepted 05.08.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Авров Кирилл Олегович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории гибридомной технологии, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 8366-9682. Researcher ID (WOS): ABE-4959-2020. ORCID: 0000-0003-3001-5855.

Шатик Сергей Васильевич, кандидат биологических наук, заведующий отделением циклотронных радиофармпрепаратов, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Researcher ID (WOS): ABB-4584-2021. ORCID: 0000-0002-1718-9335.

Самойлович Марина Платоновна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории гибридомной технологии, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 8771-1479. Researcher ID (WOS): A-1517-2017. ORCID: 0000-0002-0957-8453.

ВКЛАД АВТОРОВ

Авров Кирилл Олегович: поиск и обработка материала, написание текста статьи.

Шатик Сергей Васильевич: утверждение публикуемой версии статьи.

Самойлович Марина Платоновна: внесение правок в статью, утверждение публикуемой версии статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава РФ (№ 122040800129-5).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Kirill O. Avrov, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Hybridoma Technology, A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia). E-mail: kirillavrov@hotmail.com. Researcher ID (WOS): ABE-4959-2020. ORCID: 0000-0003-3001-5855.

Sergey V. Shatik, PhD, Head of the Department of Cyclotron Radiopharmaceuticals, A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): ABB-4584-2021. ORCID: 0000-0002-1718-9335.

Marina P. Samoilovich, DSc, Chief Researcher, Laboratory of Hybridoma Technology, A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): A-1517-2017. ORCID: 0000-0002-0957-8453.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Kirill O. Avrov: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Sergey V. Shatik: approval of the published version of the manuscript.

Marina P. Samoilovich: revision of the manuscript, approval of the published version of the manuscript.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

This research was supported by Ministry of Health of Russia (No. 122040800129-5).