

вить способы получения достаточного количества генетически модифицированных ЕК-клеток. Целью работы было сравнение эффективности трансдукции ЕК-клеток двумя вариантами лентивирусных частиц на основе векторных кассет BaEV-TR и VSV-G.

Материалы и методы

В работе использовали моноклеарные клетки периферической крови двух здоровых доноров. Первичная культура ЕК-клеток была получена с использованием набора CD3-деплеции, после чего клетки культивировались в полной ростовой среде PRMI-1640 с добавлением ИЛ-2 500 ЕД, 72 часа перед трансдукцией; также были использованы два лентивирусных вектора отличных между собой плазмидой оболочки, в первом варианте использовалась рMD2.G, кодирующая поверхностный гликопротеин G вируса везикулярного стоматита VSV-G, во втором BaEV-TR, кодирующая модифицированный гликопротеин оболочки ретровируса бабуина. Плазмиды psPAX2, содержащая гены gag-pol и pUltra, кодирующая ген репортерного белка EGFP, входили в состав обоих вариантов. В культуральный планшет сажали ЕК-клетки в концентрации 2×10^5 кл/мл с ИЛ-2 200 ЕД и 10 мкг вектофузина в 0,5 мл среды. Вирусные частицы добавляли к клеткам в количестве, необходимом для достижения множественности инфекции 1, 5, 10. Далее проводили центрифугирование при 800 g, 90 минут, 37°C. После трансдукции вируса клетки инкубировали при 37°C, а смену среды проводили спустя 24 часа. Уровень трансдукции определяли методом проточной цитометрии по экспрессии репортерного белка EGFP через 72 часа.

Результаты и обсуждение

Мы сравнили эффективность трансдукции первичных ЕК-клеток двумя вариантами лентивирусных частиц на основе векторных кассет BaEV-TR и VSV-G. Проценты трансдуцированных клеток для множественности инфекции 1, 5, 10 при использовании VSV-G и BaEV-TR составили 0,28%, 1,5%, 2,8% и 50%, 62%, 70%, соответственно. Рецептор для VSV-G представляет собой липидный рецептор низкой плотности LDL-R, который практически не экспрессируется ни в покоящихся, ни в активированных ЕК-клетках [Bari et al., 2019], что объясняет низкий процент трансдукции, полученный нами. При этом рецепторы оболочки бабуина – ASCT-1 и ASCT-2 усиленно экспрессируются в ответ на активацию ЕК-клеток ИЛ-2, ИЛ-12 и ИЛ-21, что приводит к возрастанию эффективности трансдукции BaEV-TR [1] и получило подтверждение в наших результатах.

Выводы

Процент трансдуцированных ЕК-клеток лентивирусным вектором на основе кассеты BaEV-TR выше, чем на основе векторной кассеты VSV-G, что может быть в дальнейшем использовано для целей иммунотерапии на основе модифицированных ЕК-клеток.

Ключевые слова

ЕК-клетки, трансдукция, лентивирус, псевдотипированные частицы оболочки, ретровирус, бабуин.

GC-04

Studies on therapeutic potential of a radiopharmaceutical based on polymer capsules with incorporated ^{188}Re isotope for the treatment of inflammatory joint diseases

Alisa S. Postovalova ^{1,2}, Timofey E. Karpov ^{1,2}, Nikolay A. Kostenikov ², Dmitry S. Sysoev ², Dmitry O. Antuganov ², Darya R. Akhmetova ^{1,2}, Albert R. Muslimov ¹, Alexander S. Timin ^{1,2}

¹ Peter The Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia; ² A. M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies, St. Petersburg, Russia

Contact: Dr. Alisa S. Postovalova, phone: +7 (922) 155-83-02, e-mail: alisa_postovalova@mail.ru

Introduction

Arthritis is a heterogeneous group of diseases that affect one or more joints and are caused by inflammatory damage of various genesis, by involving the synovial membrane, capsule, cartilage and other components of the joint. Inflammatory diseases of the joints (IDJ) occur in 0.3-3% of the population worldwide. In particular, they affect 21% of adults in Russia. The joint swelling, stiffness of movements and chronic pain are observed in arthritis, thus altering normal working capacity, and often leading to disability. Development of novel drugs for the treatment of arthritis is an urgent task, due to variety of the IDJ lesions and common inefficiency of basic, biological and glucocorticosteroid therapy. Radiopharmaceuticals show a number of advantages over radiation and chemotherapy used in the IDJ treatment. Hence, the aim

of the study was to develop a radiopharmaceutical of a complex composition and evaluate its therapeutic effect in the animal model of arthritis.

Materials and methods

The ^{188}Re -PLA-MPs preparation was developed in the form of ^{188}Re -labeled polymer carriers. Basic properties of the carriers, their toxicity and safety were assessed, as well as the drug biodistribution. The results of the drug stability testing and its retention at the injection site were registered by SPECT and PET-CT images taken on the 1st, 2nd, 3rd and 7th day of the study, as well as by direct radiometry with measurement of the radioactive signal (%ID/g). Therapeutic efficacy of the radiopharmaceutical was evaluated in a model of inflammatory disease of large joints in the Wistar rats by measuring changes in the joint diameter and histology

examination. The data on expression of proinflammatory cytokines were found to be consistent with histological data.

Results

The biodistribution experiments have shown that 98% of the radioactive drug remained at the injection site, without penetrating healthy tissues. Biological effects of the drug in the IDJ treatment was shown by means of the joint sizing, measurements of inflammatory blood cytokines and histological analysis.

Conclusion

According to experimental results, the developed radiopharmaceutical has shown its efficiency in the animal model of inflammatory joint disease produced in Wistar rats, thus providing a basis for further studies in this area.

Keywords

Arthritis, synovectomy, microcarriers, radionuclide therapy, rhenium.

Исследование терапевтического потенциала радиофармпрепарата на основе полимерных капсул с включением изотопа ^{188}Re для лечения воспалительных заболеваний суставов

Алиса С. Постовалова ^{1,2}, Тимофей Е. Карпов ^{1,2}, Николай А. Костеников ², Дмитрий С. Сысоев ²,
Дмитрий О. Антунанов ², Дарья Р. Ахметова ^{1,2}, Альберт Р. Муслимов ¹, Александр С. Тимин ^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; ² Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. А. М. Гранова, Санкт-Петербург, Россия

Введение

Артриты – это гетерогенная группа заболеваний, поражающих один или несколько суставов, имеющих в основе воспалительное повреждение различного генеза с вовлечением синовиальной оболочки, капсулы, хряща и других элементов сустава. Воспалительные заболевания суставов поражают 0,3-3% населения во всем мире, в частности – 21% взрослого населения России. Отмечается, что отек сустава, скованность движений и хронические боли являются симптомами артритов, ухудшающими нормальную трудоспособность и часто приводящие к инвалидности. Разработка новых лекарственных препаратов для лечения артритов является актуальной в связи с многообразием клинических форм воспалительных поражений суставов и частой неэффективностью базисной, биологической и глюкокортикоидной терапии. Радиофармпрепараты обладают рядом преимуществ перед лучевой терапией и химиотерапией в лечении воспалительных заболеваний суставов. Таким образом, цель исследования заключалась в разработке радиофармпрепарата комплексного состава и исследовании его терапевтического эффекта на животных с моделью артрита.

Материалы и методы

Был разработан препарат ^{188}Re -ПЛА-МЧ, в виде полимерных носителей, меченных ^{188}Re . Произведена характеристика носителей, оценка токсического воздействия и безопасности использования препарата, в т.ч. – его биораспределение. Результат стабильности препарата и его удержание в месте введения фиксировали по ОФЭКТ и ПЭТ-КТ изображениям, сделанным в 1, 2, 3 и 7 день исследования, а также по результатам прямой радиометрии с измерением радиоактивного сигнала (%ID/g). Исследована терапевтическая эффективность радиофармпрепарата на модели воспалительных заболеваний крупных суставов крыс линии Wistar посредством замеров изменения диаметра суставов и гистологического анализа. Данные об экспрессии провоспалительных цитокинов, полученные в ходе экспериментов, согласуются с гистологическими наблюдениями.

Результаты

В экспериментах по биораспределению установлено, что 98% радиоактивного препарата остается в месте введения, не поражая здоровые ткани организма. С помощью сделанных замеров суставов, анализа воспалительных цитокинов крови и гистологического анализа показана эффективность препарата в лечении воспалительных заболеваний суставов.

Выводы

Согласно результатам исследования, разработанный радиофармпрепарат показал свою эффективность в лечении модели воспалительных заболеваний суставов на крысах линии Wistar. Это дает основания для проведения дальнейших работ в этом направлении.

Ключевые слова

Артрит, синовэктомия, микроносители, радионуклидная терапия, рений.