

ĐÁNH GIÁ PHÂN BỐ DƯỢC CHẤT PHÓNG XẠ ^{18}F -FLUORINE-FLUOROTHYMYDINE TRÊN CHUỘT THÍ NGHIỆM GÂY KHỐI U

Evaluation of ^{18}F fluorin-fluorothymidine uptake in tumor-bearing mice

*Nguyễn Thị Kim Dung**, *Nguyễn Khắc Thát**, *Nguyễn Minh Thu****
*Phạm Đăng Tùng**,*****, *Nguyễn Quốc Thắng***

SUMMARY

PET (positron emission tomography) techniques and radiopharmaceutical tracers are becoming increasingly common. Since 1991, 3'-deoxy-3'- ^{18}F Fluorine-Fluorothymidine (^{18}F -FLT) has been studied as a PET tracer for tumor proliferation assessment. The purpose of this study was to assess tracer uptake (%ID/g) in tumor-bearing mice.

Materials and methods: Two cell lines (4T1 and LLC) were inoculated into BALB/c mice. The radiotracer was then injected, and tumor resection and organ samples were performed at 20, 40, 60, 90 and 120 minutes later. A gamma-ray spectrometer was used to calculate uptake values.

Results: The data show that the tumor's %ID/g were 3.68 ± 0.29 and 5.30 ± 0.44 at 60-minute post-injection for the 4T1 and LLC tumors, respectively. In other organs, the high uptake was observed in the kidneys, spleen, and bone marrow, but a low level of tracer was seen in the brain.

Keywords: 3'-deoxy-3'- ^{18}F Fluorine-Fluorothymidine, positron emission tomography, tumor-bearing mice.

*Khoa Y học hạt nhân, Bệnh viện Trung Ương Quân Đội 108.

**Đơn vị Y học hạt nhân, Bệnh Viện Đa Khoa Quốc Tế Vinmec Times City.

***Khoa siêu âm chẩn đoán, Trung tâm Chẩn đoán hình ảnh, Bệnh viện Trung Ương Quân Đội 108.

****Khoa Dược, Trường Đại học Phenikaa.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

^{18}F -FDG PET/CT hiện nay đang là một công cụ hiệu quả trong việc chẩn đoán và điều trị bệnh ung thư. Các dược chất phóng xạ có khả năng phát hiện khối u, kết hợp với các phương tiện ghi hình giải phẫu như cắt lớp vi tính (CT) hay cộng hưởng từ (MRI), cung cấp một công cụ hữu hiệu trong chẩn đoán khối u, đánh giá giai đoạn, đánh giá đáp ứng điều trị ... ^{18}F -FDG là một chất giống với glucose nên có thể đi qua màng tế bào và tham gia vào phản ứng đầu tiên của quá trình chuyển hóa glucose với enzyme hexokinase để tạo thành ^{18}F -FDG-6-phosphate [1,2]. Sản phẩm này nằm lại trong tế bào, phát positron và tạo ra hình ảnh PET. Mặc dù vậy, do phụ thuộc vào chuyển hóa của glucose nên ^{18}F -FDG bị ảnh hưởng bởi nhiều quá trình chuyển hoá glucose được sử dụng bởi não bộ hay quá trình viêm, từ đó dẫn đến độ đặc hiệu thấp của hình ảnh PET [2,3]. ^{18}F -FLT là một chất có cấu trúc giống với pyrimidin – một nguyên liệu cho quá trình tổng hợp ADN, và được phosphoryl hóa bởi enzyme thymidine kinase 1 (TK1) – enzyme đặc trưng cho pha S trong chu kỳ phân chia tế bào. Như vậy, sự xuất hiện của ^{18}F -FLT trong khối u sẽ phản ánh sự tổng hợp của ADN và quá trình phân bào [5,6]. Do vậy ^{18}F -FLT có thể sẽ mang lại những thông tin hữu ích cho lâm sàng khi ghi hình PET. Trên thế giới, nhiều trung tâm đã ứng dụng ^{18}F -FLT trong ghi hình ung thư trên người, Trong khi đó, tại Việt Nam dược chất phóng xạ này vẫn chưa được đưa vào ứng dụng trong thực tiễn. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đánh giá sự hấp thu của dược chất phóng xạ ^{18}F -FLT trên chuột thực nghiệm được gây khối u với dòng tế bào ung thư vú 4T1 và dòng tế bào ung thư phổi LLC.

II. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nguyên liệu

Dược chất phóng xạ: ^{18}F -FLT được tổng hợp tại Trung tâm máy gia tốc cyclotron và Y học hạt nhân Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 với hệ thống tổng hợp tự động in-house dựa trên module của hãng Synthra (IBA, VA, Hoa Kỳ). Tiền chất cho tổng hợp là 3-N-Boc-5'-O-dimethoxytrityl-3'-O-nosyl-thymidine được mua từ hãng ABX (Radeberg, Đức). Tiền chất được phản ứng với ion ^{18}F -fluoride trong dung môi acetonitrile với xúc tác

là Kryptofix 2.2.2 ở nhiệt độ 100° - 130°C. Nhóm bảo vệ được loại bỏ với dung dịch HCl 2M và NaOH 0.1M. Sản phẩm cuối được tinh chế qua cột C18 HPLC và đạt tiêu chuẩn Dược điển Châu Âu EP8.

Dòng tế bào: Dòng tế bào ung thư vú 4T1 được cung cấp bởi ATCC (Hoa Kỳ) và dòng tế bào ung thư phổi LLC được cung cấp bởi Giáo sư J. Meier, Đại học Milan, Italia. Hai dòng tế bào 4T1 và LLC được nuôi cấy trong môi trường DMEM và RPMI-1640 tương ứng, bổ sung thêm 10% FBS (fetal bovine serum) và 1% PSF (Penicillin 10000 U/mL - Streptomycin 10000 µg/mL - Amphotericin B 250 µg/mL). Tất cả tế bào được ủ trong điều kiện 5% CO₂ tại 37°C và được thu hồi bằng trypsin-EDTA.

Động vật thí nghiệm: Chuột BALB/c không phân biệt đực cái (n=60) 8 - 9 tuần tuổi được cung cấp bởi Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Tất cả chuột thí nghiệm được nuôi và cho ăn trong điều kiện tiêu chuẩn với điều hòa không khí và chu kỳ sáng tối 12h. Chuột đủ tiêu chuẩn được tiêm dưới da vùng bắp đùi 2 x 10⁶ tế bào LLC (n=30) và 5 x 10⁶ tế bào 4T1 (n=30) để tạo khối u. Sau 7 - 10 ngày, chuột gây u được chia ngẫu nhiên thành 5 nhóm.

2. Phương pháp nghiên cứu: Tại Khoa Y học hạt nhân bệnh viện TWQĐ 108, chuột được tiêm dược chất phóng xạ ^{18}F -FLT với liều từ 200 – 300 µCi vào tĩnh mạch đuôi. Tại các thời điểm 20, 40, 60, 90 và 120 phút sau tiêm, chuột được mổ và tách lấy các mô/cơ quan: máu, khối u, thận, cơ, gan, lách và xương. Tất cả mẫu được cân và đo hoạt độ phóng xạ bằng máy đo phổ gamma (Ortec, Canberra, Hoa Kỳ). Mức độ tập trung phóng xạ tại các mẫu được tính bằng phần trăm liều hấp thu trên mỗi gram mô (%ID/g).

3. Xử lý số liệu: Dữ liệu được đánh giá và phân tích bằng phần mềm SPSS 17.0 (SPSS, Chicago, Hoa Kỳ). So sánh các biến định lượng được biểu hiện dưới dạng số trung bình X (mean) ± độ lệch chuẩn (SD) hoặc tỷ lệ phần trăm. Sử dụng t-test student để so sánh các giá trị trung bình giữa các nhóm với sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê khi p < 0,05.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả gây u trên chuột thí nghiệm

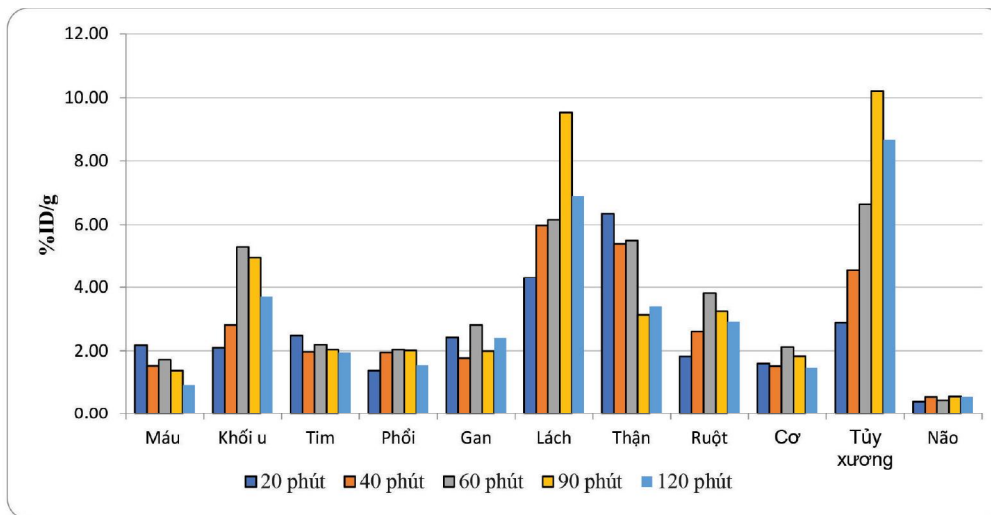
Khối lượng trung bình của chuột trong mỗi nhóm tại ngày thí nghiệm là $18,08 \pm 1,93$ g cho nhóm chuột gây u phổi LLC (n=30) và $18,93 \pm 1,55$ cho nhóm chuột gây u vú 4T1 (n=30). Mẫu khối u LLC và 4T1 có khối lượng trung bình là $0,23 \pm 0,076$ và $2,53 \pm 1,21$ gram ($p < 0,01$).

Kết quả phân bố dược chất phóng xạ ^{18}F -FLT

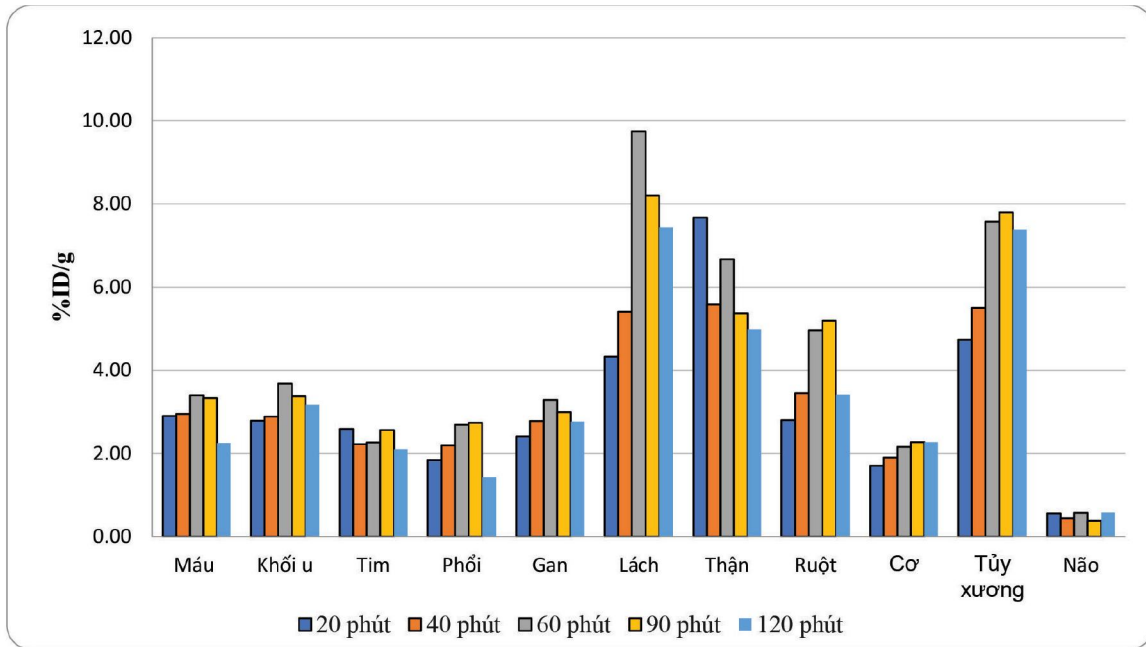
Hoạt độ phóng xạ thu được tại các mẫu u tăng dần theo thời gian, với giá trị %ID/g cao nhất của mẫu u LLC là tại thời điểm 60 phút sau tiêm là $5,30 \pm 0,44$. Trong khi đó, ở nhóm 4T1, giá trị hấp thu cao nhất là $3,68 \pm 0,29$ tại 60 phút sau khi tiêm (Hình 1 và 2). Hoạt độ phóng xạ tại các cơ quan khác như máu, gan, phổi, tim, ruột và cơ là thấp, trong khoảng từ 1 - 4 %ID/g. Dược chất phóng xạ được đào thải qua thận, do đó, hoạt độ phóng xạ tập trung ở cơ quan này rất cao, ngay từ phút thứ 20 sau tiêm, giá trị %ID/g thu được là $6,35 \pm 0,45$ và $7,67 \pm 1,21$ cho nhóm LLC và 4T1 tương ứng. Ngoài ra, dược

chất phóng xạ ^{18}F -FLT tập trung tăng dần theo thời gian ở hai cơ quan là lách và tủy xương, biểu hiện bằng giá trị %ID/g tăng dần trong suốt quá trình thí nghiệm trước khi suy giảm ở thời điểm 120 phút. Tại thời điểm kết thúc thí nghiệm, hoạt độ phóng xạ tại lách và tủy xương của nhóm LLC là $6,90 \pm 1,17$ và $8,69 \pm 0,93$. Giá trị tương ứng của nhóm 4T1 tại lách và tủy xương lần lượt là $7,43 \pm 1,35$ và $7,39 \pm 1,02$. Ngược lại, ghi nhận mức độ hấp thu dược chất phóng xạ tại nhu mô não là rất thấp tại tất cả các thời điểm lấy mẫu thí nghiệm, giá trị %ID/g cao nhất thu được ở nhóm LLC là $0,58 \pm 0,20$ tại thời điểm 90 phút còn nhóm 4T1 là $0,58 \pm 0,18$ tại thời điểm 120 phút.

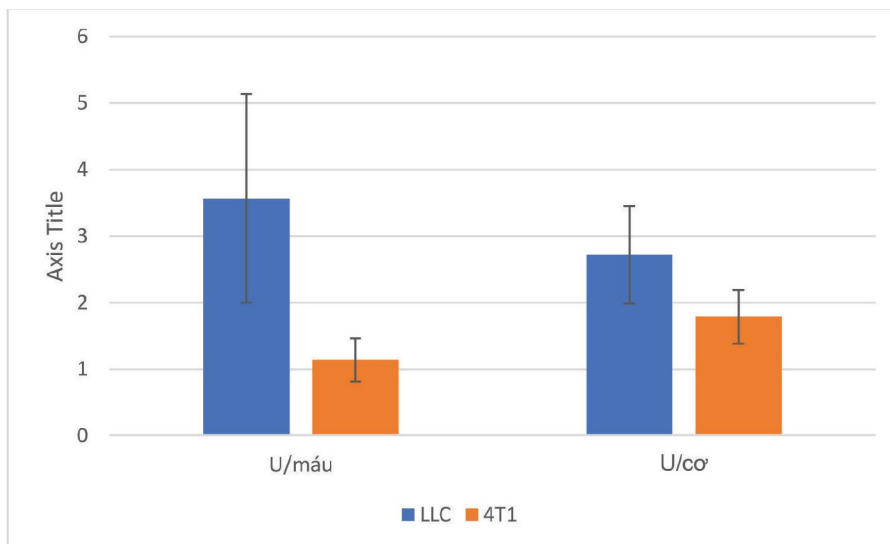
Tại thời điểm 60 phút sau khi tiêm DCPX, giá trị T/N giữa mức độ hấp thu phóng xạ của mẫu u/mẫu máu và mẫu u/mẫu cơ của nhóm LLC tương ứng là $3,57 \pm 1,57$ và $2,72 \pm 0,73$. Trong khi đó, hai giá trị này ở nhóm chuột 4T1 lần lượt là $1,14 \pm 0,32$ và $1,79 \pm 0,40$. Tới thời điểm 120 phút sau tiêm, T/N của nhóm 4T1 mới tăng lên giá trị $1,75 \pm 0,96$ với mẫu u/máu.



Biểu đồ 1. Phân bố dược chất phóng xạ ^{18}F -FLT (%ID/g) trên khối u và các cơ quan trên nhóm chuột LLC tại các thời điểm 20, 40, 60, 90 và 120 phút sau tiêm (n=30).



Biểu đồ 2. Phân bố dược chất phóng xạ ¹⁸F-FLT (%ID/g) trên khối u và các cơ quan trên nhóm chuột 4T1 tại các thời điểm 20, 40, 60, 90 và 120 phút sau tiêm (n=30).



Biểu đồ 3. Tỷ lệ T/N của hoạt độ phóng xạ giữa khối u và máu; khối u và cơ trên hai nhóm động vật thí nghiệm tại thời điểm 60 phút sau tiêm.

IV. BÀN LUẬN

Dược chất phóng xạ ^{18}F -FLT được sử dụng chủ yếu như một chất đánh giá mức độ tăng sinh của tế bào ung thư. Theo con đường chính, ^{18}F -FLT đi vào bên trong tế bào bởi các protein vận chuyển và sau đó được phosphoryl hóa thành dạng monophosphate bởi enzyme TK-1, quá trình này tăng lên trong cuối pha G1-S của chu kỳ tế bào. Từ đó, ^{18}F -FLT được lưu giữ lại bên trong cytosol ở dạng monophosphate mà không đi tiếp cho sự tổng hợp ADN và nó được coi như cơ chất cho TK-1 ở cytoplasmic [9]. Các con đường khác cũng đã được xác định như một cơ chế cung cấp nguyên liệu cho việc tổng hợp ADN trong quá trình phân chia tế bào, khi enzyme thymidine synthase chuyển hóa deoxyuridine monophosphate thành thymidine monophosphate trong con đường này. Cả hai cơ chế này sẽ cung cấp đủ lượng thymidine cho sự tổng hợp ADN [10].

Trong nghiên cứu này, sự phân bố của dược chất phóng xạ ^{18}F -FLT trên nhóm chuột gây u với hai dòng tế bào đã cho thấy khả năng hấp thu ở nồng độ cao khác nhau của dược chất trên khối u. Trên cơ quan bài tiết là thận, dược chất phóng xạ tập trung nhiều từ những thời điểm đầu tiên. Ngoài ra, cũng ghi nhận giá trị %ID/g cao tại lách và tủy xương, điều này phù hợp với mức độ tăng sinh tế bào sinh lý mạnh ở những cơ quan này. ^{18}F -FLT không đi qua được hàng rào máu não, do đó giá trị %ID/g thu được tại nhu mô não thấp hơn nhiều so với các cơ quan khác. Tại các mẫu u, hoạt độ phóng xạ tập

trung tăng dần theo thời gian, cho thấy mức độ phân chia mạnh của các tế bào ung thư. So sánh hai nhóm cho thấy rằng, nhóm LLC có giá trị hấp thu phóng xạ cũng như T/N cao hơn rõ rệt so với nhóm 4T1: u/máu: $3,57 \pm 1,57$ so với $1,14 \pm 0,32$ ($p < 0,05$); u/cơ: $2,72 \pm 0,73$ so với $1,79 \pm 0,41$ ($p > 0,05$). Điều này phù hợp với thực tế khi mà các mẫu u phổi có mức độ phát triển và khối lượng cao hơn so với mẫu u vú trong cùng điều kiện nuôi cấy ($2,53 \pm 1,21$ gram so với $0,23 \pm 0,076$ gram, $p < 0,01$). Tuy nhiên, tỷ lệ T/N của ^{18}F -FLT trên hai nhóm này so với dược chất phóng xạ ^{18}F -FDG thì thấp hơn rõ rệt khi so với các nghiên cứu trước đó [11,12]. Hai cơ chế cung cấp thymidine cho tổng hợp ADN nhân có thể giải thích cho sự hấp thu DCPX ^{18}F -FLT không cao như ^{18}F -FDG trên các mô u. Do đó, có thể dự đoán được rằng, nếu ghi hình các nhóm động vật thí nghiệm trên máy micro PET/CT thì nhóm có giá trị T/N cao hơn sẽ cho hình ảnh ghi nhận được tốt hơn [13]. Ngoài ra, sự hấp thu khác nhau trên mẫu khối u của hai nhóm động vật cũng cho thấy mức độ tăng sinh khác nhau của hai dòng tế bào ung thư được thử nghiệm.

V. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã tổng hợp dược chất phóng xạ ^{18}F -FLT và dược chất phóng xạ này hấp thu tốt trên hai nhóm chuột thí nghiệm có gây khối u. Trên lâm sàng, dược chất phóng xạ này có thể được sử dụng để đánh giá sớm sự đáp ứng với điều trị của khối u.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Pauwels, E.K., et al., *Positron-emission tomography with [^{18}F]fluorodeoxyglucose. Part I. Biochemical uptake mechanism and its implication for clinical studies*. J Cancer Res Clin Oncol, 2000. 126(10): p. 549-59. <https://doi.org/10.1007/PL00008465>.
2. Mamede, M., et al., *[^{18}F]FDG uptake and PCNA, Glut-1, and Hexokinase-II expressions in cancers and inflammatory lesions of the lung*. Neoplasia, 2005. 7(4): p. 369-79. <https://doi.org/10.1593/neo.04577>.
3. Corrigan, A.J., P.J. Schleyer, and G.J. Cook, *Pitfalls and Artifacts in the Use of PET/CT in Oncology Imaging*. Semin Nucl Med, 2015. 45(6): p. 481-99. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2015.02.006>.
4. Jadvar, H., *Molecular imaging of prostate cancer: PET radiotracers*. AJR Am J Roentgenol, 2012. 199(2): p. 278-91. <https://doi.org/10.2214/ajr.12.8816>.

5. Couturier, O., et al., *[Is 3'-deoxy-3'- [18F] fluorothymidine ([18F]-FLT) the next tracer for routine clinical PET after R [18F]-FDG?]*. Bull Cancer, 2005. 92(9): p. 789-98. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16203269>.
6. Schwartz, J.L., et al., *Monitoring tumor cell proliferation by targeting DNA synthetic processes with thymidine and thymidine analogs*. J Nucl Med, 2003. 44(12): p. 2027-32. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14660729>.
7. Chalkidou, A., et al., *Correlation between Ki-67 immunohistochemistry and 18F-fluorothymidine uptake in patients with cancer: A systematic review and meta-analysis*. Eur J Cancer, 2012. 48(18): p. 3499-513. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.05.001>.
8. Shen, G., et al., *Correlations of 18F-FDG and 18F-FLT uptake on PET with Ki-67 expression in patients with lung cancer: a meta-analysis*. Acta Radiol, 2018. 59(2): p. 188-195. <https://doi.org/10.1177/0284185117706609>.
9. Shields, A.F., et al., *Imaging proliferation in vivo with [F-18]FLT and positron emission tomography*. Nat Med, 1998. 4(11): p. 1334-6. https://www.nature.com/articles/nm1198_1334.
10. McKinley, E.T., et al., *Limits of [18F]-FLT PET as a biomarker of proliferation in oncology*. PLoS One, 2013. 8(3): p. e58938. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058938>.
11. Fueger, B.J., et al., *Impact of animal handling on the results of 18F-FDG PET studies in mice*. J Nucl Med, 2006. 47(6): p. 999-1006. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16741310>.
12. Apisarnthanarax, S., et al., *Early detection of chemoradioresponse in esophageal carcinoma by 3'-deoxy-3'-3H-fluorothymidine using preclinical tumor models*. Clin Cancer Res, 2006. 12(15): p. 4590-7. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-05-2720>.
13. Bao, X., et al. *Early monitoring antiangiogenesis treatment response of Sunitinib in U87MG Tumor Xenograft by (18)F-FLT MicroPET/CT imaging*. Biomed Res Int, 2014. 2014: p. 218578. <https://doi.org/10.1155/2014/218578>.

TÓM TẮT

PET (positron emission tomography) và các dược chất phóng xạ phát positron đang ngày càng trở nên phổ biến. Từ năm 1991, 3'-deoxy-3'-¹⁸Fluorine-Fluorothymidine (¹⁸F-FLT) đã được nghiên cứu tổng hợp như là một dược chất phóng xạ PET trong ghi hình khả năng tăng sinh của khối u. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá mức độ hấp thu dược chất phóng xạ (%ID/g) của dược chất phóng xạ ¹⁸F-FLT trên chuột thí nghiệm được gây u từ hai dòng tế bào là ung thư vú và ung thư phổi.

Nguyên liệu và phương pháp: Dòng tế bào ung thư vú (4T1) và dòng tế bào ung thư phổi (LLC) được nuôi cấy và tạo u trên dòng chuột BALB/c. Sau đó chuột được tiêm dược chất phóng xạ và mổ lấy khối u và các cơ quan: máu, xương, thận, gan, lách, cơ tại các thời điểm 20, 40, 60, 90 và 120 phút sau tiêm. Sử dụng thiết bị đo phổ gamma để tính toán mức độ hấp thu phóng xạ tại khối u và các cơ quan.

Kết quả: hoạt độ phóng xạ tập trung tại các khối u tăng dần theo thời gian và cao nhất tại thời điểm 60 phút là $3,68 \pm 0,29$ %ID/g trên dòng tế bào 4T1 và $5,30 \pm 0,44$ %ID/g trên dòng tế bào LLC. Ở các mô và cơ quan khác, dược chất phóng xạ tập trung nhiều ở tại thận, lách và tủy xương, dược chất phóng xạ tập trung ở não rất thấp, giá trị tại thời điểm 60 phút là $0,45 \pm 0,17$ %ID/g và $0,58 \pm 0,09$ %ID/g cho nhóm LLC và 4T1 tương ứng.

Từ khoá: 3'-deoxy-3'-¹⁸Fluorine-Fluorothymidine, chụp cắt lớp phát xạ positron, chuột thí nghiệm gây u.

Người liên hệ: Nguyễn Thị Kim Dung

Ngày nhận bài: 7/9/2022. Ngày gửi phản biện: 7/9/2022

Ngày nhận phản biện: 21/9/2022. Ngày chấp nhận đăng bài: 22/9/2022