

УДК 616-073.916

О. В. Щербіна, *д-р мед. наук, проф.*

## ІМУНОСЦИНТИГРАФІЯ: ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ І РОЛЬ У КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

*Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика, Київ*

В останні роки бурхливо розвивається імуносцинтиграфія — метод радіонуклідної діагностики, який базується на візуалізації пухлин та їх метастазів із використанням як радіофармацевтичних препаратів (РФП) моноклональних антитіл, мічених радіонуклідами [1–3].

### Теоретичні основи імуносцинтиграфії

Моноклональними називаються антитіла, які виробляються одним клоном клітин, що походять з однієї материнської клітини. На відміну від поліклональних, моноклональні антитіла мають молекулярну ідентичність і моноспецифічність, тобто взаємодіють тільки з певною антигенною детермінантою. Моноклональні антитіла завдяки своїй унікальній специфічності, мають більш високий коефіцієнт зв'язку радіоактивності з пухлиною, ніж із суміжними тканинами. Це дає можливість візуалізувати пухлину за допомогою сцинтиграфії або однофотонної емісійної комп'ютерної томографії (ОФЕКТ).

**Мета** методу імуносцинтиграфії — візуалізація злоякісних пухлин та їх метастазів, диференціальна діагностика з доброякісними пухлинами та непухлинними процесами. Принцип методу полягає у візуалізації пухлин та їх метастазів завдя-

ки специфічній взаємодії мічених радіонуклідами моноклональних антитіл або їх фрагментів із відповідними антигенами пухлинної клітини. Це дає змогу візуалізувати пухлину як осередок гіперфіксації імунорадіофармацевтичного препарату.

Моноклональні антитіла, що їх використовують для імунодетекції, належать до імуноглобулінів класу G. Вони містять 2 важких (H) і 2 легких (L) пептидних ланцюжки, з'єднаних між собою дисульфідними міс-точками. Внаслідок ферментативного розщеплення утворюються два F(ab)-фрагменти (antigen — binding fragment — фрагмент, що зв'язується з антигеном) і Fc-фрагмент. F(ab)-фрагмент містить антигензв'язувальну ділянку молекули, Fc-фрагмент являє собою залишкову частину молекули, його назва пов'язана зі здатністю до кристалізації. Молекула може розщеплюватися на F(ab')<sub>2</sub> і Fc-фрагменти, де F(ab')<sub>2</sub> — фрагмент, еквівалентний двом фрагментам F(ab).

Для імуносцинтиграфії перевагу надають не цілим молекулам, а F(ab')<sub>2</sub>- або F(ab)-фрагментам. Ціла молекула метаболізується у печінці та ретикулоендотеліальній системі, тимчасом як F(ab)-фрагменти виводяться нирками. Оскільки F(ab)-

фрагменти моновалентні, вони зв'язуються з антигенами слабше, ніж інтактний бівалентний імуноглобулін. У F(ab')<sub>2</sub>-фрагментів зберігається авідність бівалентного імуноглобуліну за відсутності імуногенності Fc-фрагмента. У разі використання F(ab')<sub>2</sub>-фрагментів зв'язок радіоактивності у системі пухлина — фон вищий, ніж за використання цілих молекул. Цілі молекули імуноглобулінів можуть взаємодіяти з Fc-рецепторами клітин людини та призводити до хибнопозитивних результатів, чого не трапляється у разі застосування фрагментів. Крім того, фрагменти моноклональних антитіл глибше проникають у пухлину, ніж інтактні молекули.

Сьогодні розроблено різноманітні моноклональні антитіла проти всіх пухлиноспецифічних антигенів, які виявляються у сироватці крові методом радіоімунологічного аналізу та багатьох антигенів пухлин різних типів і локалізацій. Якщо раніше використовували головним чином мишачі моноклональні антитіла та їх фрагменти, то останнім часом перевагу віддають людським.

Здатність міченого моноклонального антитіла виявляти пухлину залежить не тільки від розміру пухлини, її локалізації, розподілу імунорадіофарма-

цвітничного препарату, але й від самого радіонукліда. Основними критеріями для вибору методів мічення моноклональних антитіл є: збереження імунологічної активності білка після мічення, сприйнятливості молекули до окиснення, задовільна специфічна активність, кінетика мічення та зв'язок між моноклональним антитілом і радіонуклідами, який має бути стабільним *in vivo*. При виборі радіонукліда враховують його фізичні характеристики (період напіврозпаду, енергію випромінювання), хімічні реакції, які потрібні для включення радіонукліда в молекулу моноклонального антитіла, а також променеве навантаження на організм пацієнта. Для мітки моноклональних антитіл найчастіше використовують радіонукліди йоду ( $^{131}\text{I}$ ,  $^{123}\text{I}$ ),  $^{111}\text{In}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  та ін.

Основні методи радіоїодування моноклональних антитіл — ізотопний обмін й електрофільне заміщення. Перший метод застосовують для сполук, які містять у своїй структурі атом галоїду. Другий, найбільш поширений, використовують для всіх білкових молекул, що містять хоча б одне тирозинове ядро. Процес мічення відбувається в результаті електрофільного заміщення водню йодом в активованій ароматичній молекулі. Якщо не потребується високої специфічної активності, то електрофільне заміщення — найпростіший і найнадійніший метод. Проте для досягнення високої специфічності необхідно застосовувати інші методи мічення. До них належить метод кон'югації, при проведенні якого радіоактивний йод попередньо включається в молекулу-носії, наприклад, солі діазонію, яка потім ковалентно «зшивається» з моноклональним антитілом. Проведення реакції кон'югації практично повністю виключає неспецифічну взаємодію мічених моноклональних антитіл з антигеном. При цьому має бути витримане оптимальне співвід-

ношення реагентів, порушення якого призводить до втрати імунореактивності моноклональних антитіл.

Недолік моноклональних антитіл, мічених йодом, — дегалогенізація молекул, що призводить до високого нагромадження вільного йоду у щитоподібній залозі та інших органах. Крім того,  $^{131}\text{I}$  створює високе променеве навантаження на організм, через що не можна вводити його у великій кількості. Внаслідок цього неможливо отримати високоякісні сцинтиграми, особливо зрізи, під час проведення ОФЕКТ. До того ж, у разі використання йоду зменшується імунореактивність молекул моноклональних антитіл. Серед ізотопів йоду найоптимальнішим є  $^{123}\text{I}$ , проте через високу вартість його застосування обмежене.

З огляду на це збільшився інтерес до мічення молекул моноклональних антитіл атомами металів ( $^{111}\text{In}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , та ін.). При технології мічення металами використовують біфункціональні хелати, молекули яких ковалентно зв'язуються з білками, причому зв'язок з металами достатньо міцний. Хелати — хімічні сполуки, які містять хелатні групи (як правило, поліамінокарбоксільні групи) для зв'язування іонів металів, а також реакційно здатну функціональну групу, яка може реагувати з амінокислотним залишком моноклональних антитіл (ангідрид кислоти, бромацетильна група, іони діазонію та ін.). З-поміж хелатів найчастіше використовують діетилентріамінпентаоцтову кислоту (ДТПА). Процедура мічення проводять у дві стадії. На першій стадії здійснюють модифікацію самого хелату (отримання ангідридів, амідів і т. д.). На другій стадії відбувається взаємодія модифікованого хелату і моноклонального антитіла з утворенням ковалентного зв'язку. Продукт реакції очищають від домішок за допомогою колонкової хроматографії або іншим

способом. Суть радіомічення нуклідами металів полягає в кон'югації хелату зі специфічним районом моноклонального антитіла таким чином, що утворений комплекс моноклональне антитіло-хелат зберігає здатність зв'язувати антиген.

Незважаючи на те, що хелатування — простий і зручний метод радіомічення, йому властиві певні недоліки. По-перше, деякі хелати зв'язуються з молекулами моноклональних антитіл недостатньо міцно. По-друге, якщо до моноклонального антитіла приєднується більше одного хелату, може виникнути зниження біологічної активності внаслідок перехресного з'єднання молекул антитіл.

Найбільша проблема у разі використання моноклональних антитіл, мічених індієм, — неспецифічна радіоактивність у печінці та нирках. Це робить їх непридатними для діагностики згаданих органів. У разі мічення антитіл технецієм спостерігається часткова втрата імунологічної активності.

З-поміж позитронвипромінювальних радіонуклідів для мічення моноклональних антитіл запропоновано  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{124}\text{I}$ . Позитронна емісійна томографія має високу чутливість за рахунок «електронної» колімації.

Одна з проблем, яка виникає у процесі синтезу мічених антитіл, — зниження імуноспецифічності останніх при утворенні РФП. Як один із варіантів виходу з цієї ситуації є створення комплексів антитіло — радіонуклід *in vivo* [3]. При цьому спочатку внутрішньовенно вводять моноклональні антитіла, з'єднані з авідином або біотином. Після нагромадження вказаного комплексу у пухлині хворому вводять радіоактивну мітку, яка, з'єднавшись з авідином або біотином, дозволяє візуалізувати пухлинну тканину, в якій нагромадилися моноклональні антитіла. Основною перевагою вказаного способу є зниження неспецифічного зв'язування ан-

титіл у поєднанні з отриманням високого співвідношення радіоактивності «пухлина — фон».

У разі використання мічених людських моноклональних антитіл алергічні реакції спостерігаються рідко. Частіше це трапляється при застосуванні мишачих антитіл. Для оцінки реактивності організму пацієнта на імунорадіофармпрепарат рекомендується внутрішньошкірне введення 10–20 мкг антитіла за 48 год до імуносцинтиграфії. За 1 год до ін'єкції антитіл внутрішньовенно вводять 100 мг преднізолону. Можна також застосовувати антигістамінні препарати.

При застосуванні моноклональних антитіл, мічених йодом, за 3 доби до ін'єкції та протягом 7 діб після неї проводять блокаду щитоподібної залози (1 мл 5%-го розчину Люголя тричі на добу). Для отримання якісного зображення хворим вводять моноклональні антитіла, мічені  $^{131}\text{I}$  (37–74 МБк),  $^{111}\text{In}$  (185 МБк),  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (555–1110 МБк).

Візуалізацію пухлин і метастазів проводять на гамма-камерах із клінічними комп'ютерами, однофотонних емісійних комп'ютерних томографах. Тривалість періоду між ін'єкцією препарату та початком візуалізації залежить від фармакодинаміки міченого моноклонального антитіла, а також від властивостей радіонукліда та типу пухлини, яку візуалізують. Обов'язковий компонент дослідження — обробка результатів на клінічному комп'ютері — включає в себе кількісну сцинтиграфію згідно з вибраними зонами інтересу: осередок ураження та симетрична неуражена тканина.

При проведенні ОФЕКТ після збору діагностичної інформації за спеціальними алгоритмами проводять реконструкцію аксіальних, коронарних, сагітальних і навкісних зрізів [4]. Результати імуносцинтиграфії вважаються позитивними, якщо чітко візуалізується

осередок гіперфіксації відповідно до локалізації пухлини. При цьому нагромадження у пухлині стосовно здорової тканини становить не менше 140 % (нагромадження в пухлинах різних гістологічних типів і локалізацій варіює в межах 140–1000 %). На серіях зрізів при проведенні ОФЕКТ чітко візуалізується пухлина.

При використанні для візуалізації пухлин сучасних гібридних апаратів для проведення променевої діагностики (поєднання рентгенівського комп'ютерного й однофотонного емісійного комп'ютерного томографів або рентгенівського комп'ютерного та позитронного емісійного томографів) на фоні анатомічних структур візуалізуються осередки нагромадження радіофармпрепаратів відповідно до локалізації пухлин чи їх метастазів [5].

Розподіл міченого моноклонального антитіла залежить від васкуляризації пухлини, проникності її судин, неспецифічного зв'язування з тканинами, зв'язування з антигеном (він міститься не тільки у пухлині, але і в інших тканинах), доступності та щільності зв'язувальних сайтів антигену в пухлині. Встановлено пряму залежність між ступенем диференціювання злоякісних пухлин і чутливістю методу. Імунорадіофармацевтичний препарат міцніше зв'язується з живою високодиференційованою пухлинною тканиною, ніж з фокусами некрозу та фіброзу. Пухлина зв'язує невелику частину міченого моноклонального антитіла, більша частина його розпадається з вивільненням радіонукліда. Навіть за низького поглинання пухлиною мічених моноклональних антитіл співвідношення пухлина/неуражена тканина високе, якщо нормальні тканини не зв'язують РФП.

Для успішної візуалізації необхідне високе співвідношення пухлина/фон, особливо для імунодетекції глибоко розташова-

них пухлин. Висока концентрація в крові мічених моноклональних антитіл після їх введення призводить до низького співвідношення пухлина/фон і перешкоджає отриманню якісного зображення пухлини при проведенні сцинтиграфії. Для зниження концентрації циркулюючих у крові імунорадіофармацевтичних препаратів вводять інші антитіла. Виявлення пухлин можна покращити, використовуючи для імуносцинтиграфії моноклональні антитіла з високою специфічністю й афінністю. Для поліпшення якості зображення та підвищення розрізняльної здатності використовують субтракцію (математичне віднімання) фону пулу крові й інтерстиціальних рідин з використанням введеної в організм референтної субстанції, міченої радіонуклідом, що має іншу енергію випромінювання. Для високоспецифічних моноклональних антитіл, які забезпечують співвідношення пухлина/фон приблизно 7 : 1, віднімання фону не обов'язкове.

Чутливість, специфічність, точність імунодетекції пухлин у багатьох випадках перевищує 90 % [3; 6]. При використанні моноклональних антитіл, мічених  $^{111}\text{In}$  та  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , ці показники дещо нижчі внаслідок, головним чином, активного неспецифічного захоплення імунорадіофармацевтичних препаратів компонентами ретикулоендотеліальної системи. Проте, завдяки більш високому фотонному виходу, при застосуванні цих РФП розрізняльна здатність вища порівняно з дослідженнями із застосуванням моноклональних антитіл, мічених  $^{131}\text{I}$ . Розрізняльна здатність імуносцинтиграфії — 0,4–0,5 см при детекції поверхневих пухлин та 1,5–2 см — при детекції глибоко розташованих пухлин. За низьких значень нагромадження імунорадіофармацевтичного препарату планарна сцинтиграфія не візуалізує глибоко розташовані пухлини. У цьому разі ОФЕКТ дозволяє візуалізувати глибоко

розташовані пухлини розміром 0,8–1 см.

### **Роль імуносцинтиграфії у клінічній практиці**

За даними літератури, досить вірогідні результати одержані щодо виявлення й оцінки розповсюдження пухлинного процесу, а саме: пухлин голови та шиї, меланоми, особливо внутрішньоочної, раку молочної залози (моноклональні антитіла до рецепторів соматостатину), недрібноклітинного раку легень, раку підшлункової залози, раку товстої та прямої кишки, неходжкінських лімфом, раку яєчників, раку передміхурової залози. Так, завдяки сцинтиграфії та ОФЕКТ із моноклональними антитілами, чутливість діагностики раку товстої кишки збільшилася до 85–90 %, а меланоми та її метастазів у кістки та лімфатичні вузли — до 90–96 %. Проте позитивна діагностика різноманітних пухлин черевної порожнини із застосуванням найбільш специфічних моноклональних антитіл спостерігається переважно у тих хворих, у яких підвищена концентрація у сироватці крові відповідних антигенів-маркерів, а за їх субнормальних рівнів спостерігається багато хибно-негативних результатів. Ефективність діагностики вища у разі застосування ОФЕКТ. Метод дозволяє діагностувати пухлини раніше і менших розмірів порівняно з планарними дослідженнями. Описані випадки виявлення при імуносцинтиграфії пухлин, які не діагностувались іншими методами, у тому числі й такими сучасними, як комп'ютерна та магніторезонансна томографія, іноді за рік до підтвердження останніми.

Розглянемо більш детально застосування імуносцинтиграфії для діагностики раку передміхурової залози. Спроби радіонуклідної візуалізації простати довгий час були невдалими, зумовлено відсутністю радіофармацевтичних препаратів із вираженою тропністю до тканини перед-

міхурової залози. У 80-х роках ХХ ст. розпочали застосовувати моноклональні антитіла до простатичної кислоти фосфатази —  $^{111}\text{In}$ -РАУ 276. Проте дослідження з цим препаратом виявилось недостатньо чутливим. Сьогодні для імуносцинтиграфії передміхурової залози застосовують моноклональні антитіла 7E11-C5.3 до простатичного специфічного мембранного антигену, мічені  $^{111}\text{In}$  ( $^{111}\text{In}$ -СҮТ 356; синоніми:  $^{111}\text{In}$ -capromab pentetide, Prostascint) і  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -СҮТ351).  $^{111}\text{In}$ -СҮТ356 вводять внутрішньовенно активністю 185 МБк, дослідження проводять через 1 год (фаза перфузії) та 48–96 год (відкладені зображення).  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -СҮТ351 вводять внутрішньовенно активністю 600 МБк, дослідження виконують через 10 хв, 6–8 та 22–24 год після ін'єкції РФП. Проводять планарні дослідження всього тіла й ОФЕКТ таза і черевної порожнини. Пухлини передміхурової залози візуалізуються як вогнища гіперфіксації РФП відповідно до їх локалізації. За допомогою імуносцинтиграфії та однофотонної емісійної комп'ютерної томографії з моноклональними антитілами виявляють також метастази у тазові й екстрапельвікальні лімфатичні вузли. Метастази візуалізуються у вигляді осередків гіперфіксації препарату; ОФЕКТ з  $^{111}\text{In}$ -СҮТ356 дозволяє діагностувати метастатичні осередки розміром 5 мм. Завдяки імуносцинтиграфії виявляють рецидиви пухлини у ділянці ложа передміхурової залози у хворих після простатектомії. Особливо цінний цей метод у пацієнтів із підвищеним рівнем простатичного специфічного антигену при негативних результатах комп'ютерної та магніторезонансної томографії. При цьому однофотонна емісійна комп'ютерна томографія з моноклональними антитілами у багатьох спостереженнях допомагає встановити правильний діагноз. Частота виявлення рецидивів корелює з рівнями ПСА

та індексом Глісона. Для кращої візуалізації ложа передміхурової залози рекомендують будувати тривимірні зображення таза. Чутливість методу в діагностиці рецидивів — 78–92 %, специфічність — 77 %. При динамічному спостереженні за хворими, у яких зростає рівень простатичного специфічного антигену, метод діагностує нові метастатичні вогнища. При ефективному променевому лікуванні або гормонотерапії вогнища гіперфіксації РФП зникають, що корелює з клінічними даними та рівнями ПСА в сироватці крові.

### **Перспективи імуносцинтиграфії пухлин**

Дослідження у галузі радіоімунолокалізації тривають. Вони спрямовані на розв'язання таких завдань:

— підвищення чутливості імуносцинтиграфії;

— отримання більш пухлиноспецифічних моноклональних антитіл, розробка оптимальних комбінацій радіонуклідів та моноклональних антитіл і найкращих методів з'єднання їх один з одним;

— застосування панелі моноклональних антитіл до різних пухлинних маркерів, а також моноклональних антитіл до синтетичних і генно-інженерних антигенів;

— кліренс органів і тканин від незв'язаного пухлиною імунорадіофармацевтичного препарату шляхом введення іншого, направлено проти даного препарату антитіла;

— використання химерних антитіл, людських моноклональних антитіл і циклічне застосування різних видів антитіл для розв'язання проблеми появи у пацієнтів антитіл до повторно введеного імунорадіофармацевтичного препарату;

— зниження імуногенності імунорадіофармацевтичних препаратів без зміни імунореактивності моноклональних антитіл.

Можна зробити висновок, що імуносцинтиграфія не повністю виправдала покладені на неї надії: розв'язати проблему ранньої діагностики злоякісних новоутворень. Існує багато проблем як на етапі виробництва моноклональних антитіл, так і на етапі їх клінічного застосування. До того ж, ці дослідження мають високу вартість, що не дає змоги широко застосовувати їх у клінічній практиці. Потрібні подальші дослідження у галузі імунодетекції пухлин, ефективна комбінація

імуносцинтиграфії з іншими сучасними методами променевої діагностики.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Радіологія* — діагностика: програми, алгоритми, стандарти / Д. С. Мечев, В. П. Іщенко, В. А. Романенко, О. В. Щербіна // *Сімейна медицина*. — 2003. — № 1-2 (6). — С. 26-32.
2. Мечев Д. С. Місце ядерної медицини в радіологічних діагностичних програмах і алгоритмах / Д. С. Мечев, О. В. Щербіна, О. І. Авраменко // *Український радіологічний журнал*. — 2007. — Т. 15, № 2. — С. 263-267.
3. *Радионуклідная диагностика* / под ред. Ю. Б. Лишманова, В. И.

Чернова. — Томск : STT, 2004. — 394 с.

4. Щербіна О. В. Современные методы лучевой диагностики — однофотонная эмиссионная компьютерная томография и позитронная эмиссионная томография / О. В. Щербіна // *Международный медицинский журнал*. — 2007. — Т. 13, № 1. — С. 108-116.

5. *Совмещенная позитронно-эмиссионная и компьютерная томография (ПЭТ-КТ) в онкологии* / Г. Е. Труфанов, В. В. Рязанов, Н. И. Дергунова [и др.]. — СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2005. — 105 с.

6. *Clinical Nuclear Medicine* / eds. G. Cook, M. Maisey, K. Britton, V. Chenzu. — L. : Hodder Arnold, 2006. — 915 p.

УДК 616-073.916

О. В. Щербіна

#### ІМУНОСЦИНТИГРАФІЯ: ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ І РОЛЬ У КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

Розглянуто основи сучасного методу радіонуклідної діагностики — імуносцинтиграфії. Описані: принцип методу, імунорадіофармацевтичні препарати, методика дослідження, оцінка результатів, розрізняльна здатність методу, клінічне застосування. Розглянуті перспективи імуносцинтиграфії пухлин.

**Ключові слова:** імуносцинтиграфія, пухлини, діагностика, моноклональні антитіла, імунорадіофармацевтичні препарати.

UDC 616-073.916

O. V. Shcherbina

#### IMMUNOSCINTIGRAPHY: THEORETICAL BASES AND ROLE IN CLINICAL PRACTICE

The bases of modern method of nuclear medicine — immunoscintigraphy are considered. Principle of the method, immunoradiopharmaceutical drugs, methods of research, estimation of results, clinical application are described. The perspectives of tumours immunoscintigraphy are highlighted.

**Key words:** immunoscintigraphy, tumours, diagnostics, monoclonal antibodies, immunoradiopharmaceutical drugs.

*Передплацуйте  
і читайте  
журнал*



## ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

У випусках журналу:

Передплата приймається  
у будь-якому передплатному  
пункті

Передплатний індекс 08205

- ◆ Фундаментальні проблеми медицини та біології
- ◆ Нові медико-біологічні технології
- ◆ Оригінальні дослідження
- ◆ Огляди
- ◆ Інформація, хроніка, ювілеї