

## Ядерные методы в обнаружении и лечении рака

*В развивающихся странах возрастает интерес к усовершенствованным диагностическим методам*

Р.Д. Пайясена,  
А. Куарон  
и М. Нофаль

**Р**ак – основная проблема для здравоохранения в настоящее время. Расчет на обнаружение единственного возбудителя этой болезни (а значит, и на единственный способ лечения) не оправдался, и в настоящее время медики склоняются к той точке зрения, что каждое раковое заболевание уникально и требует индивидуального подхода. Многие факторы считаются возбудителями рака: курение, жевание бетеля, вирусные агенты и ультрафиолетовое излучение. Недавно была отмечена жизненно важная роль „генов ракового риска“ (онкогенов), представляющих собой аберрантные формы нормальных генов.

Помимо современных подходов в области иммунотерапии и генетической манипуляции значительные и даже яркие успехи достигнуты в лечении рака обычными методами хирургии, облучения и химиотерапии. Однако совершенно очевидно, что основным фактором во многих случаях ракового заболевания, определяющим конечный исход, остается его обнаружение по возможности на самой ранней стадии. Но дело с этим обстоит не так хорошо, как того хотелось бы. Например, в случаях с раком легких лишь 20 % из них диагностируются до того, как болезнь получила развитие. Поэтому требуются усовершенствованные методы диагноза.

### Усовершенствованные диагностические методы

Две области отмечены достижениями, заметно повлиявшими на чувствительность (численность пациентов, которым был правильно поставлен диагноз с помощью позитивного теста) и на специфичность (численность пациентов, не име-

ющих ракового заболевания, при негативном тесте) методов диагноза рака.

Первая область – идентификация и количественное определение веществ, известных как „опухолевые маркеры“: метод *in vitro*, осуществляемый как лабораторный тест на образце биологической жидкости, обычно крови.

Вторая область касается методов *in vivo*, требующих присутствия пациента. Эти методы предусматривают проведение современных процедур с использованием компьютеров, воспроизводящих изображение внутренних органов и позволяющих обнаружить опухоль. Они позволяют также определить злокачественность опухолей тогда, когда они еще небольшие и находятся в первоначальном месте заболевания. Каждая из этих двух групп тестов в сочетании с клиническими данными способствует раннему диагностированию заболевания, а также наблюдению за больным или оценке развития болезни в процессе лечения.

### Роль ядерных методов

Ядерные методы внесли существенный вклад в диагностические области. Прежде всего они являются удобным средством обнаружения маркеров опухоли и ее визуализации благодаря тестам *in vitro* и *in vivo* с использованием радионуклидов.

**Обнаружение опухолевых маркеров.** К маркерам относится ряд веществ, выделяемых многими (но не всеми) опухолями. Они попадают в систему кровообращения, и обнаружение их присутствия или концентрации указывает на существование самой опухоли.

Некоторые из них являются химическими веществами, обычно образуемыми организмом („эвтопические маркеры“). Их повышенные уровни указывают на злокаче-

Г-да Пайясена и Куарон – сотрудники Отдела естественных наук МАГАТЭ, директором которого является д-р Нофаль.

венность опухоли. Повышение уровня кальцитонина, особенно после стимуляции пентагастрином, — яркий пример такого биохимического маркера для раннего обнаружения медуллярного рака щитовидной железы. Другим маркером могут быть адренокортикальные гормоны.

Существуют и другие эволюционные биохимические маркеры. Они образуются в необычном месте, если в нем возникает раковое заболевание. Например, адренокортикотропный гормон (АСТН) обычно является продуктом слизистой железы, но повышенные уровни его возникают при раке бронхов и некоторых других органов.

Имеются также «онкоутробные» маркеры. Они обычно присутствуют в различные периоды эмбриональной и утробной жизни. В небольших концентрациях они могут быть у взрослых людей, но при некоторых злокачественных опухолях появляются в больших количествах, например, альфа-фето-протеин (АФП) и карциноэмбриональный антиген (СЕА).

Последняя группа маркеров может быть названа «мутационной». Примерами могут служить паропротейн при миеломе и мутация протеина Р53 при раке бронхов и толстой кишки.

Получены почти две дюжины опухолевых маркеров, обнаруживаемых радиоиммуноанализом. К ним относятся АФП, человеческий хорионический бета-гонадотропин (HCG), микроглобулин бета-2, СА 15-3, СА 19-9, СА-50, СА-125, карциноэмбриональный антиген (СЕА), кортизол, гастрин, HGH, инсулин, MCA, неоптерин, NSE, PAP, пролактин, PSA, PTH, SCC, TCT, TG и TPA.

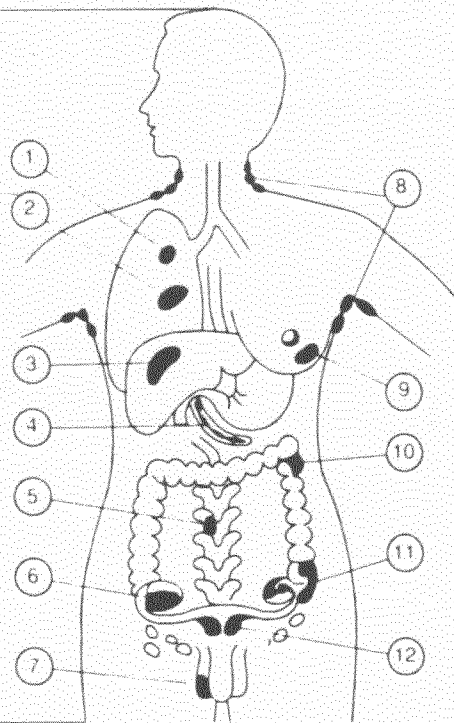
К сожалению, в большинстве своем опухолевые маркеры не являются продуктами конкретных органов или конкретного заболевания. Они не образуются каким-либо одним органом. Например, повышенные уровни СЕА обнаруживаются при злокачественных опухолях в желудочно-кишечном тракте, грудной железе, легких, яичниках и щитовидной железе. Уровень СА-125 повышается в 80 % случаев рака яичников, но также и при воспалении почек, эндометриозе, циррозе и панкреатите.

Не существует также и опухолевых маркеров злокачественности, потому что они образуются нормальными тканями или теми из них, которые претерпели незлокачественные изменения. Например, антиген предстательной железы выделяется нормальной железой, а также при ее доброкачественной гиперплазии и при раке этого органа.

Предпринимались попытки установить «пороговые точки» или строго рекомендательные уровни злокачественности. Для некоторых веществ (АФП, HCG, СА-125) этот подход оказался вполне удовлетворительным. Но он не совсем подходит в тех случаях, когда имеют место доброкачественный некроз ткани, воспаление и кровотечения, которые также влияют на повышенные уровни соответствующих маркеров.

В связи с этим наибольшее значение измерения опухолевых маркеров приобретают не при первоначальной или ранней диагностике, а главным образом, при оценке прогноза, послетерапевтического наблюдения, обнаружении ранних рецидивов и мониторинге (в сочетании с методами, позволяющими получать изображение органа) состояния и размера опухоли. Даже в случае с тиреоглобулином, когда маркер в редких случаях оказывается на 100 % свойственным данному органу, его диагностическая ценность при раке щитовидной железы равна почти нулю. Но он оказывается очень полезным при мониторинге реакции на лечение. Если лечение эффективно, его

Этот упрощенный рисунок показывает наиболее известные опухолевые маркеры и первоначальные места их образования: 1-NSE при небольшом размере рака легких; 2 — ТРА и СЕА при раке легких; 3 — АФП при первичном раке печени (гепатоме); 4 — СА-50 и СА 19-9 при панкреатитном раке; 5 — Бета-2 микроглобулин при лейкемии; 6 — АФП и СА-125 при раке яичников; 7 — АФП и HCG при тестикулярном раке; 8 — Бета-2 микроглобулин при злокачественной лимфоме; 9 — ТРА, ER<sup>+</sup> и СЕА при раке грудной железы; 10 — СА 19-9 и СЕА при раке толстой кишки; 11 — СЕА, ТРА, СА 19-9 и СА-50 при колоректальном раке; 12 — PSA и PAP при простатическом раке.



уровень нормализуется, а если неэффективно, то остается высоким.

Опухолевые маркеры — иммуногенны или могут стать таковыми благодаря хорошо известным средствам. Поэтому они используются для получения антител, могущих быть поликлоновыми (получаются из многочисленности клеточных линий в экспериментальном животном) или моноклоновыми (из одной клеточной линии в результате применения специального метода, известного как гибридомный метод). Этот широко применяемый в настоящее время метод значительно увеличил чувствительность, специфичность и диапазон аналитических методов обнаружения опухолевых маркеров.

Популярные методы обнаружения и измерения маркеров в биологических жид-

костях основываются на реакциях между самим маркером, выступающим в качестве антигена, и соответствующим ему антителом. Типичный пример – CA-125, являющийся антигеном рака. Его антигенная детерминанта обнаруживается моноклоновым антителом OC-125, возникающим как иммуноген в результате использования клеточной линии рака яичников (OVCA 433). Реакции антиген – антитело могут измеряться неизотопными методами, такими как связанные с ферментами иммуноанализы (ELISA), в которых фермент используется для определения конечной точки или степени соединения.

Однако радиоизотопные методы (радиоиммуноанализ – RIA или чаще применяемый иммунорадиометрический анализ – IRMA) имеют преимущество в чувствительности, точности, удобстве и затратах. Это микроаналитические методы, основанные главным образом на реакции между веществом, которое желательнее обнаружить или измерить (аналит) и которое в данном случае связано с опухолью антигеном, и соответствующим связующим агентом (реагентом), который в данном случае является моноклоновым антителом. Присоединение соответствующего меченого радионуклида (обычно йода-125) к антигену (RIA) и антителу (IRMA) дает возможность определить фракционное завладение мест соединения в конце реакции. Можно сказать, что это – методы выбора, применимые к любым опухолевым маркерам.

Имеющаяся информация о чувствительности и специфичности некоторых известных опухолевых маркеров указывает на то, что их измерение не всегда возможно при ранней или первоначальной диагностике рака. (См. таблицу.) Они более полезны при мониторинге лечения и при обнаружении рецидивов. Имеются и некоторые исключения. К ним относятся уже упомянутые эстрогические маркеры, используемые обычно для отбора групп большого риска, например, измерение человеческого хорионического гонадотропина (HCG) для наблюдения за развитием хорионического рака у пациентов, имевших гидатиобразные бородавки.

Измерение опухолевых маркеров может быть полезно при определении стадии развития или серьезности злокачественного заболевания. На ранних стадиях развития рака грудной железы (стадии 1 и 2) уровни маркеров AFP и CA-153 остаются нормальными. Но они поднимаются на стадиях 3 и 4, когда возникают локальные или удаленные метастазы. И в данных случаях уровни обоих маркеров могут повыситься при злокачественности, не относящихся к грудной железе.

Проблемы неадекватной чувствительности и специфичности могут быть решены измерением нескольких опухолевых маркеров вместе и в сочетании со сложными статистическими методами анализа данных. Такие „фотографии опухолевых мар-

**Характеристика специфичности некоторых известных маркеров опухолей**

| Маркер  | Опухоли  | Специфичность |
|---------|--|---------------|
| AFP     | гепатома гонады  | >80 %         |
| CA 15-3 | рак грудной железы<br>рак яичников   | >80 %         |
| CA 19-9 | желудочно-кишечный тракт (желудок, печень, желчный проток, поджелудочная железа, колоректальный рак) | >65 %         |
| CA-125  | рак яичников<br>поджелудочная железа   | >70 %         |
| CEA     | самые твердые фазы опухолей (не у курильщиков!)  | ~60 %         |
| NSE     | овсяноклеточный рак легких<br>апудома<br>семинома  | >70 %         |
| PAP     | простатический рак   | 80 %          |
| PSA     | простатический рак   | 50 %          |
| SCC     | рак УГН (ухо, горло, нос)<br>легкие<br>матка   | >80 %         |
| TCT     | медуллярный рак щитовидной железы  | >80 %         |
| TG      | рак щитовидной железы (после терапии)  | >80 %         |
| TPA     | грудная железа, легкие, колоректальный рак, мочевого пузыря, матка                                   | ~40 %         |

керов” могут показать различия между доброкачественными и злокачественными поражениями, а также между различными видами клеток раковой опухоли. Такой подход, недавно примененный к раку легких, повысил точность диагноза. Совместное измерение бета-HCG и AFP также оказалось полезным при клинической периодизации исследуемых новообразований.

В целом же, несмотря на их преимущества, чувствительные и точные радиоизотопные методы измерения опухолевых маркеров служат пока дополнением к другим диагностическим процедурам, по крайней мере, при обнаружении рака на его ранних стадиях.

**Визуализация органов.** В этой области радиоизотопные методы также сосуществуют бок о бок с неизотопными альтернативами: например, диагностическая радиология, автоматизированная томография (СТ), магнитно-резонансное произведение изображения (MRI).

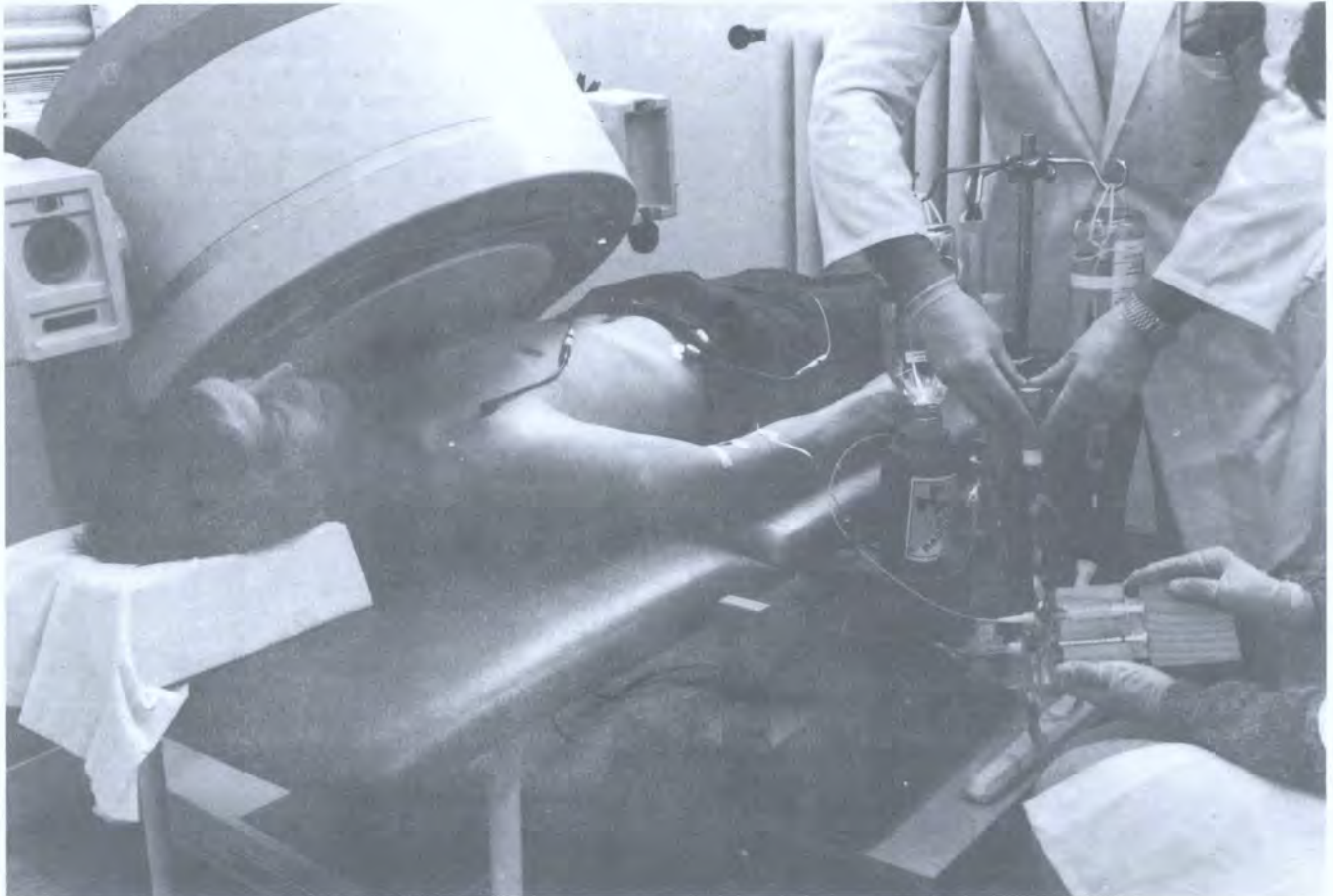
Примеров использования самих радионуклидов, эффективно вводимых в опухоли внутривенно, очень немного. Они, пожалуй,

ограничиваются йодом-131 для дифференцированного рака щитовидной железы после удаления самой железы и йодом-131 MIBG для опухолей хромаффинной ткани (феохромоцитома, нейробластома, паранганглиома). В настоящее время также широко используется технеций-99m, даже для мечения моноклонов. Он может показывать новообразования, но не может отличить злокачественные новообразования от других, таких как киста или даже воспалительные процессы, причем независимо от того, вводится ли он один или вместе с различными химическими агентами, показывающими их приемлемость для конкретных органов (например, сернистый коллоид для печени). Из других непосредственно используемых радионуклидов галлий-67 обладает чувствительностью, равной 90%, и специфичностью примерно в 75% при обнаружении опухолей в легких. Но он не обладает хорошей способностью распознавания злокачественности.

денное внутривенно антитело связывает антиген на поверхностной мембране опухолевых клеток. Места отложения антител могут быть затем визуализированы внешним воспроизведением изображения. Эта процедура, известная как радиоиммуноскинтиграфия (RIS), становится все более популярной по мере разработки лучших антител и методов мечения более подходящими изотопами.

Из этого примера становятся очевидными общие требования к системе RIS. Должны быть антиген, выделяемый раковыми клетками; направленное против него моноклоновое антитело хорошего качества (высокие сходство и специфичность); соответствующий изотопный индикатор с системой мечения, не затрагивающей иммунореактивность, и система внешнего воспроизведения изображения локализации антитела после введения его пациенту. Сам метод совершенно безболезненный. Он заключается во введении меченого антите-

После введения пациенту соответствующего радиофармацевтического препарата может быть визуализировано распространение его в исследуемом органе. (Предоставлено: ORNL)



Когда стали доступны моноклоновые антитела для связанных с опухолями антигенов, были разработаны более эффективные системы введения радионуклидов в опухоли. Например, злокачественная меланома выделяет антиген P97. На него можно нацелить надлежащим образом меченое моноклоновое антитело. Вве-

ла пациенту (который не нуждается в специальной подготовке к этому) и воспроизведении изображения через определенное время (от нескольких часов до нескольких дней).

Фактически большинство выделяемых раковыми клетками антигенов, не являющихся специфичными ни для органов, ни

для тканей, производит тот же болезненный эффект, что и в случае обсуждавшихся ранее методов *in vitro*. Большая часть используемых в RIS моноклоновых антител связана с опухолью, а не специфична для нее, и лишь незначительная часть (от 0,01 до 0,001 %) введенной радиоактивности локализуется в конечном итоге в опухоли. Остальная часть находится в крови и в таких органах, как печень, селезенка и почки. Поэтому обычно обнаруживаются только крупные опухоли в местах с малой окружающей или фоновой активностью. Последним многообещающим успехом в этой области является применение искусственных антигенов, таких как антиген панаденокарцинома Ag150H82. Имеются также ассоциируемые с опухолью антигены (CEA, AFP, HCG) в очищенном виде, и животные могут иммунизироваться ими вместо раковых экстрактов.

Успехи, достигнутые в разработке методов мечения радионуклидами, привели к крупным усовершенствованиям. Технеций-99m является наиболее широко применяемым в лабораториях ядерной медицины мира изотопом. Он очень подходит, имея в виду короткий период его полураспада, для использования в RIS, поскольку основное поглощение опухолями антител происходит в первые 24 ч. Но когда не было хорошего метода мечения антител технецием-99m, а воспроизведение изображения осуществлялось через длительный интервал времени, использовались другие изотопы, такие как йод-131 и индий-131. Недавно были описаны подходящие методы мечения антител технецием-99m, которые можно применять в лабораториях ядерной медицины при госпиталях. Эти методы не вызывают резких изменений и не вредят иммунореактивности антител.

Что касается приборов, то в настоящее время ощущается основная потребность в плоской гамма-камере с компьютером. Автоматизированная томография однофотонной эмиссии (SPECT) имеет преимущество в лучшей разрешающей способности, особенно при сдвоенной или строенной камере. Но этот вопрос, по-видимому, еще не решен, так как государственные органы считают, что применение SPECT в RIS вызывает больше проблем, чем их решений.

В отношении методов *in vitro* RIS более полезен для обнаружения рецидивного рака и для наблюдения после лечения, чем для первоначального обнаружения; в этом отношении он более чувствителен, чем СТ. При использовании метода RIS чувствительность обнаружения рецидивного рака желудочно-кишечного тракта, мочевых и гинекологических систем близка к 100 %, а специфичность составляет 80 %. Это лучше соответствующих данных по методам *in vitro*. (См. фото на обложке этого издания: типичный пример рецидива рака толстой кишки, обнаруженного с помощью RIS с использованием моноклонового антитела, направленного против CEA)

Последним достижением в использовании радионуклидов для обнаружения злокачественных новообразований является томография позитронной эмиссии (PET). Это сложный метод, использующий короткоживущие радионуклиды (фтор-18, кислород-15 и углерод-11), получаемые на циклотроне. PET не просто локализует опухоль, но и дает информацию о ее функциональном или метаболическом статусе, которая может оказаться ключевой в определении злокачественности. Он применим также к опухолям мозга и определяет степень злокачественности или стадию опухоли. Ни СТ, ни MRI не могут это сделать точно. Очевидно, что этот метод имеет будущее, если он станет более удобным и менее дорогостоящим для широкого использования.

### Интересы и деятельность МАГАТЭ

МАГАТЭ способствовало созданию сети хорошо оборудованных и отвечающих соответствующим требованиям RIA и лабораторий по ядерной медицине при крупных госпиталях, университетах и других учреждениях в развивающихся странах. Большой интерес таких лабораторий к проведению RIA для опухолевых маркеров и RIS не удивителен, если учитывать увеличившуюся доступность необходимых реагентов (включая моноклоновые антитела и технеций-99m), приборов (оборудование для RIA и гамма-камеры) и подготовленный персонал.

В связи с таким интересом Секция ядерной медицины Отдела естественных наук МАГАТЭ интенсифицировала свою работу в этих областях. В мае 1990 г. был проведен семинар по применению ядерных методов в ранней диагностике рака в развивающихся странах. В 1991 г. предоставленные ранее отдельные исследовательские контракты завершатся и начнут осуществляться на мировом уровне координированные исследовательские программы по анализам опухолевых маркеров (с использованием в качестве модели AFP при раке печени) и по RIS (с использованием CEA в качестве модели при раке прямой кишки). Уже состоялось совещание консультантов с участием международных экспертов по разработке рекомендаций относительно технических и материальных аспектов осуществления проекта.

На последующие несколько лет предусматривается интенсивная программа работ по исследовательским контрактам и соглашениям, по организации семинаров, подготовке стипендиатов и проведению совещаний по координации исследований. Такие программы окажут значительное содействие утверждению упомянутых методов в развивающихся странах и повышению роли ядерных методов в укреплении здоровья человека.