

ОБЗОРЫ

УДК: 616.097;576.8.077

©Коллектив авторов

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА В ДИАГНОСТИКЕ НИЗКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ГЛИОМ

В.П. Баклаушев, К.А. Павлов, В.П. Чехонин*

Лаборатория иммунохимии ФГУ "Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского", Москва, Кропоткинский пер. д. 23;
тел. (495)202-28-13; факс: (495)637-50-55; эл. почта: serpoff@mail.ru

Рассмотрены современные методы радиоиммунодиагностики с помощью моноклональных антител, приводится анализ существующих подходов многокомпонентной радиоиммунолокализации с помощью биспецифических антител. Охарактеризован спектр экспрессируемых низкодифференцированными глиомами потенциальных белков-мишеней для радиоиммунолокализации, обсуждаются существующие преклинические и клинические результаты по иммунолокализации опухолей мозга. Отмечены наиболее перспективные приемы иммунохимической детекции глиом и доставки в них терапевтических агентов с помощью опухолю-специфических антител.

Ключевые слова: мультиформная глиобластома, глиома С6, моноклональные антитела, радиоиммунодиагностика, направленный транспорт.

ВВЕДЕНИЕ. Низкодифференцированные опухоли мозга - мультиформная глиобластома, анапластическая астроцитома и медуллобластома - характеризуются быстрым прогрессированием, низкой эффективностью традиционных методов химио- и радиотерапии и высокой вероятностью продолженного роста после удаления опухоли "в пределах здоровой ткани". Вследствие перечисленных причин, средняя продолжительность жизни больных с рецидивирующими низкодифференцированными опухолями мозга составляет около года с момента постановки диагноза [1-3].

Недостаточная эффективность хирургического лечения глиобластомы является следствием её быстрого инвазивного роста, при котором опухолевые клетки глубоко инфильтрируют окружающую интактную ткань и не могут быть удалены вместе с основным очагом глиомы [4]. По этой же причине при глиобластомах малоэффективна радиотерапия. Отсутствие чётких границ глиобластомы при нейровизуализационных исследованиях (рентгеновская компьютерная, магниторезонансная и однофотонная эмиссионная томография) также не позволяет точно определить объем предстоящей операции. Химиотерапия глиобластомы с помощью цитостатических антибиотиков существенно ограничена вследствие экспрессии в эндотелиоцитах опухолевых микрососудов транспортных белков системы множественной лекарственной устойчивости [5], которые, несмотря на структурно-функциональную неполноценность гематоопухолевого барьера, препятствуют накоплению ксенобиотиков в опухолевой ткани. Кроме того, цитостатики, эффективные в отношении активно делящихся клеток, не действуют на мобилизованные глиомные клетки, которые после химиотерапии становятся источниками продолженного роста глиомы [6].

Идея использования специфических противоопухолевых антител для диагностики и терапии новообразований была предложена ещё в 1948 г. Pressman и Keighley [7], однако практическое применение иммунохимической локализации опухолей у человека стало возможным с открытием белков, ассоциированных с

* - адресат для переписки

опухолями: канцеро-эмбрионального антигена (СЕА) [8] альфа-фетопротеина [9], [10] и других онкомаркеров.

Очищенные из антисыворотки поликлональные антитела против СЕА, меченные ^{131}I , были впервые использованы *in vivo* для визуализации опухолей желудочно-кишечного тракта и яичников Goldenberg и соавт. в 1978 году [11]. В дальнейшем этот же подход применили для радиоиммунной локализации опухолей почек [12], репродуктивного тракта, герминогенных опухолей и хориокарциномы [13]. Первая попытка радиоиммунной локализации глиомы была предпринята Day и Mahaley с соавт. (1965), применившими антитела к опухолевым антигенам, выделенные из кроличьей антисыворотки, полученной при иммунизации препаратами глиомы [14].

Новым этапом в радиоиммунолокализации опухолей стало создание гибридной технологии [15], которая позволила получать стандартные гомогенные антитела, специфичные к отдельным эпитопам онкомаркеров. С помощью гибридной технологии был проведен широкий скрининг антигенов глиальных опухолей. Были обнаружены моноклональные антитела, распознающие антигены, ассоциированные с тиреоидной карциномой [16], меланомой [17], карциномами желудочно-кишечного тракта [18], а также целый ряд антител, распознающих такие маркеры глиомы, как рецептор эпидермального фактора роста [19-21], рецепторы фактора роста нервов [22] и инсулиноподобного фактора роста-I [23, 24], фибронектин [25, 26], тенаascin [27-32], нуклеопротеиновые комплексы [33, 34] и ряд других неидентифицированных белков, представленных в экспериментальных глиомах животных и глиобластоме человека.

1. МЕТОДОЛОГИЯ РАДИОИММУНОЛОКАЛИЗАЦИИ.

1.1. Включение радиоизотопа в молекулу антитела.

Пилотные эксперименты по радиоиммунолокализации опухолей были проведены с антителами, меченными γ -радиоизотопами. В настоящее время для этих целей применяются разные виды изотопов с γ - β - и α -эмиссией. Среди наиболее распространенных γ -радиоактивных изотопов прежде всего следует отметить изотопы йода (^{133}I , ^{131}I , ^{123}I , ^{125}I). В клинических исследованиях чаще применяется ^{131}I [3, 11], поскольку он характеризуется высокоэнергетической γ -эмиссией ($E_{\max} = 0,81$ мэВ) и относительно малым периодом полураспада (семь суток). Гамма-излучение ^{123}I обладает меньшей энергией; его период полураспада составляет 13 часов, вследствие чего он предпочтительнее для радиодиагностики, чем для терапии. Для экспериментальных целей, наоборот, наиболее удобным является изотоп ^{125}I , сочетающий “мягкую” γ -эмиссию ($E_{\max} = 0,35$ мэВ) с достаточно высоким периодом полураспада (60,1 суток).

Радиоактивные изотопы йода довольно легко включить в молекулу иммуноглобулина. Йодирование антител проводят в нейтральной среде с помощью различных окисляющих агентов (Т-хлорамин, лактопероксидаза, йодоген и др.); при этом йод включается в орто- (по отношению к -ОН) положение фенольной группы остатка тирозина, гораздо реже — в остатки фенилаланина, триптофана или гистидина. Большинство исследователей в настоящее время используют в качестве окислителя йодоген, поскольку, несмотря на относительно невысокую эффективность включения (около 25%), этот метод позволяет максимально сохранять физико-химические свойства и функциональную активность антител, что крайне важно для дальнейшей работы с меченым препаратом.

Среди других γ -изотопов для мечения антител применяют технеций-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$, $T_{1/2} = 6$ часов), индий-111 (^{111}In , $T_{1/2} = 67$ часов) и иттрий-90 (^{90}Y , $T_{1/2} = 2,7$ суток). Связывания радиоизотопа металла с антителом добиваются с помощью гетерофункциональных хелатирующих агентов [35]. Энергия γ -распада этих изотопов существенно выше, чем у йода (например, для ^{90}Y $E_{\max} = 2,3$ мэВ). Те или иные клинические испытания при опухолях различной этиологии проведены также с бета- (^{188}Re , ^{186}Re , ^{177}Lu , ^{67}Cu), и альфа-эмиттерами (^{213}Bi , ^{211}At) [36].

Лимитирующим моментом при системном введении любых меченных радиоизотопом антител, является неспецифическое “фоновое” облучение,

которому подвергаются все органы и системы до тех пор, пока циркулирующие в кровотоке антитела полностью не захватятся органом-мишенью или не элиминируются из организма (для иммуноглобулинов это время может составлять несколько суток). Неспецифическая сорбция антител в печени и селезенке также способна усиливать фоновую поглощенную дозу. Кроме того, воздействие сывороточных протеолитических ферментов может приводить к отщеплению от антитела радиоактивно меченных пептидов и аминокислот и к их неспецифическому распределению в организме. Избежать этих недостатков можно с помощью поэтапного введения антител-векторов и радиоактивного гаптена.

2. МНОГОКОМПОНЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ РАДИОИММУНОЛОКАЛИЗАЦИИ.

Открытие технологии рекомбинантных ДНК [37] и последующая за ним биотехнологическая революция сделали возможным создание нового класса рекомбинантных биспецифических антител и разработку на их основе многокомпонентных систем радиоиммунодиагностики и терапии [38-41].

Методологию многокомпонентных систем иммунолокализации опухолей, названную "*Pretargeting*" (от англ. "*предварительное прицеливание*"), описали Reardan и соавт. [42] и Goodwin и соавт. [43] в 1988 году. Чтобы избежать прямого связывания антител с радиоизотопом они применили химически модифицированные биспецифические антитела, имеющие сайт распознавания радиоактивно меченного низкомолекулярного гаптена. Современная концепция "*Pretargeting*" базируется на применении рекомбинантных биспецифических антител, один гипервариабельный участок которых распознаёт антиген-мишень в опухоли, а другой - низкомолекулярный гаптен с включенным радиоизотопом. Сначала внутривенно вводятся биспецифические антитела (чаще всего в виде F(ab)₂-фрагментов с молекулярной массой около 100 кД), и после того, как большая часть их аккумулируется в опухоли-мишени (примерно через сутки), вводят радиоактивно меченный пептид, аффинно связывающийся со вторым центром антител [44]. Преимущества данного подхода неоспоримы: с одной стороны, это гораздо безопаснее для пациента, чем введение меченых антител, поскольку небольшой радиоактивный гаптен во много раз быстрее элиминируется из кровотока, чем крупное антитело, и тем самым уменьшает "фоновое" облучение здоровых тканей, а с другой, применение высокоаффинных низкомолекулярных лигандов позволяет существенно повысить чувствительность и специфичность радиоиммунной локализации [45]. Для нереконбинантных антител в качестве лигандов чаще всего применяется авидин-биотиновая система [28, 46-48]. Авидин имеет четыре центра связывания биотина с исключительно высокой аффинностью - константа диссоциации этого комплекса составляет 10⁻¹⁵ М (в большинстве случаев аффинность антиген-антительного взаимодействия характеризуется константами диссоциации не ниже 10⁻⁹ М).

С помощью молекулярной биотехнологии стало возможным получение модифицированных биспецифических антител, обладающих такой же валентностью, как и полноразмерные иммуноглобулины, но при этом вдвое меньшей молекулярной массой (75 кДа) - так называемые "малые иммунопротеины" (small immunoproteins) [49]. Меньший размер таких иммунопротеинов способствует их лучшему проникновению через гематоопухолевый барьер и более быстрой элиминации из кровотока [50], а валентность, равная таковой целых антител, позволяет полностью сохранить иммунохимические свойства [51].

В настоящее время сконструировано пять типов двух- и трехкомпонентных систем иммунологической локализации опухолей:

1. Рекомбинантные биспецифические антитела, содержащие один сайт связывания гаптена и один или два сайта распознавания антигена-мишени [52].

2. Антитела, конъюгированные со стрептавидином [28] или авидином [46], связывающими четыре молекулы биотина, который, в свою очередь, содержит радиоактивный изотоп или другой терапевтический агент.

3. Биотинилированные антитела, образующие комплексы с радиоактивно меченным авидином [47] или стрептавидином [48].

АНТИТЕЛА В ДИАГНОСТИКЕ ГЛИОМ

4. Антитела, конъюгированные с ДНК, последовательность которой распознается комплементарным радиоактивно меченным нуклеотидным зондом [53].

5. Антитела, связанные с ферментом, превращающим неактивный молекулярный предшественник фармакологического средства (“пролекарство”) в активное вещество в очаге, где происходит специфическое накопление антител [54].

Трёхкомпонентные системы радиоиммунной локализации включают промежуточный этап, на котором вводится вещество, специфически связывающееся с первым и вторым компонентом. Трёхкомпонентная система может, в частности, состоять из биотинилированных антител (первый этап), стрептавидина (второй этап) и меченного радиоизотопом биотина (третий этап) (рисунок) [38]. Если после связывания введенных биотинилированных антител с клетками-мишенями, ввести в кровоток стрептавидин, конъюгированный с субстратом, захватываемым печенью, (например, галактозилированный стрептавидин), то это приведет к образованию комплексов с биотинилированными антителами, оставшимися в кровотоке, и их быстрой утилизации в гепатоцитах. Введенный после этого радиоактивный биотин будет поступать только в очаг опухоли, где накопились специфические антитела [55].

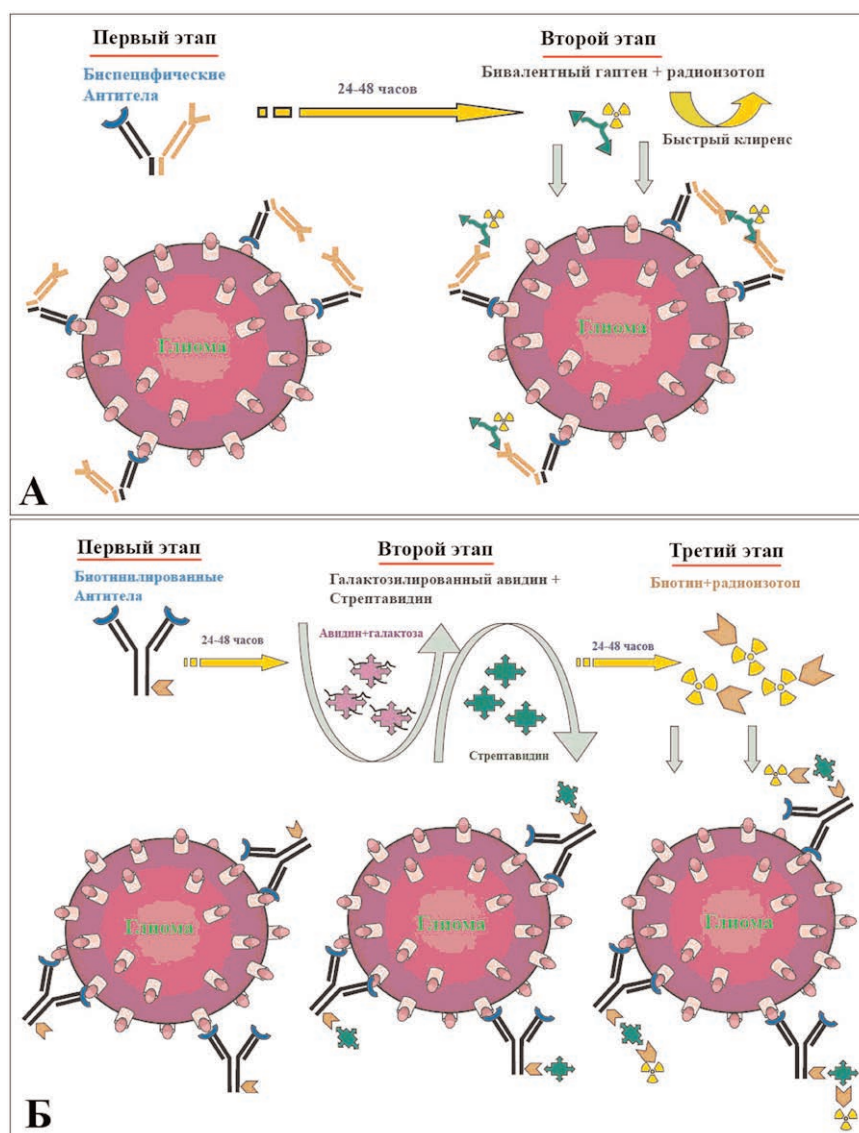


Рисунок.

Схема двух- (А) и трех- (Б) компонентных систем радиоиммунной локализации опухоли (Pretargeting). По материалам Goldenberg D.M. et al., 2006 [38].

Биотин имеет небольшую молекулярную массу, вследствие чего он предпочтительнее в качестве носителя радиоактивного изотопа. Поэтому пример трехкомпонентной системы, приведенный на рисунке, представляется наиболее удачным. Однако, при конъюгации цельного антитела со стрептавидином (в эквимольном соотношении) получается довольно крупный комплекс около 220 кДа [28].

Недавно создан и испытан в экспериментах на животных рекомбинантный слитый белок (с молекулярной массой 170 кДа), состоящий из четырёх Fv-фрагментов и стрептавидаина [56]; он существенно меньше аналогичного по валентности конъюгата авидина с нативными антителами. Тем не менее, достаточно большой размер первого компонента системы *Pretargeting* требует дополнительного этапа по удалению его остатков из кровотока. При этом диета экспериментальных животных не должна содержать биотина, поскольку алиментарный биотин может всасываться в кишечнике, поступать в кровь и накапливаться в тканях.

Генноинженерные биспецифические антитела могут быть "гуманизированы" т.е. частично, либо полностью, включать аминокислотную последовательность иммуноглобулинов человека, что позволяет уменьшить иммунную реакцию на чужеродный белок. Этого достигают путём замены Fc-фрагмента в молекуле IgG мыши на Fc-фрагмент человека. Возможна и "полная гуманизация" - в этом случае выполняется замена гипервариабельных участков CDR₁₋₃ (от англ. Complementarity-Determining Region) в человеческих антителах на мышиные, распознающие антиген нужной специфичности [57]. Более того, путём направленного мутагенеза, приводящего к замене отдельных аминокислотных остатков в гипервариабельных участках, возможно существенное повышение аффинности гуманизированных антител [58].

Высокая специфичность и хорошая стандартизация рекомбинантных гуманизированных антител, а также отсутствие иммунной реакции при их введении человеку сделали возможным их клиническое применение. В настоящее время существует уже более десятка коммерческих препаратов на основе гуманизированных антител ("Rituximab" [59], "Tositumomab" [60], "Gemtuzumab" [61], "Lim-1" [62], "Trastuzumab" [63], "Vitaxin" [64], "Cetuximab" [65] и др.), распознающих различные антигены, избирательно экспрессирующиеся в низкодифференцированных опухолях, в том числе и в глиобластоме.

3. ХАРАКТЕРИСТИКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИГЕНОВ-МИШЕНЕЙ ДЛЯ РАДИОИММУННОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ГЛИОМ.

Согласно современной концепции иммунологической локализации глиом, иммунохимическими мишенями для транспорта антител в опухоль могут быть либо антигены, избирательно экспрессирующиеся в опухолевой ткани (опухоль-специфические), либо антигены, концентрация которых в опухоли многократно (иногда в десятки и сотни раз) превышает их концентрацию в нормальной ткани (опухоль-ассоциированные) [66]. Важным моментом является доступность антигена-мишени для циркулирующих в кровотоке антител, поэтому большая часть исследований по направленной визуализации опухоли выполнена с помощью антител к поверхностным мембранным белкам глиомных клеток и/или неопластических эндотелиоцитов.

Наиболее подробно экспрессия селективных для низкодифференцированных глиом белков изучена на экспериментальной модели крысиной глиомы С6. Быстро прогрессирующая клеточная линия этой глиомы была получена на крысах *Wistar-Furth* с помощью канцерогенеза N,N'-нитрозометилмочевинной [67]. По морфологии, характеру инвазивного роста и паттерну экспрессируемых белков глиома С6 наиболее близка мультиформной глиобластоме человека [68]. При гистологическом анализе обоих типов опухолей обнаруживаются полиморфные клетки, зоны некроза и геморрагий. Генетически эти клетки также гетерогенны: для них характерны различные хромосомные aberrации и точечные мутации [69]. Интракраниальная инъекция крысам клеток линии С6 (в количестве 10⁵-10⁶)

приводит к развитию инвазивной опухоли, окруженной кольцом реактивных астроцитов [1, 70-72].

Особенности антигенного состава клеток С6 глиомы в той или иной степени характерны для всех разновидностей низкодифференцированных опухолей [4]. Паттерн экспрессии низкодифференцированных глиом (глиома С6 крысы и мультиформная глиобластома человека) включает большое количество белков базальной мембраны (фибронектин, тенасцин, ламинин), белков клеточной адгезии (интегрины, NCAM L1, ICAM) и тканевых протеолитических ферментов (матриксные металлопротеиназы, катепсины и др.) (табл. 1). Перечисленные группы белков реализуют молекулярные механизмы инвазивного роста, они обеспечивают деградацию и перестройку внеклеточного матрикса вокруг глиомы, а также опосредуют перивазальную и периневральную миграцию глиомных клеток [73, 74]. Несмотря на то, что ни один из приведенных в таблице белков не является строго опухоль-специфическим, концентрация их в ткани опухоли может на порядки отличаться от аналогичной в нормальной нервной ткани (например, концентрация тенасцина в низкодифференцированных глиомах и карциномах более чем в 200 раз выше, чем в интактных тканях) [3]. В связи с этим белки межклеточного матрикса и молекулы клеточной адгезии представляют большой интерес в качестве мишеней для направленной диагностики и терапии. Особенный интерес среди адгезивных молекул вызывает интенсивно экспрессирующийся в опухолях интегрин $\alpha_v\beta_3$, причём не только с позиций радиоиммунодиагностики, но и в качестве мишени для направленной терапии. Например, гуманизированные моноклональные антитела к этому белку (Vitaxin) могут блокировать ангиогенез в опухоли и вызывать апоптоз в опухолевых эндотелиоцитах [75, 76].

Ещё один большой класс белков, экспрессия которых многократно повышена в экспериментальной глиоме С6 и глиобластома человека, - тирозинкиназные рецепторы факторов роста и собственно факторы роста, поддерживающие высокий уровень пролиферации опухолевых клеток и стимулирующие неопластический ангиогенез (табл. 2) [77]. В различной степени успешные эксперименты по радиоиммунолокализации глиобластомы и других низкодифференцированных опухолей проведены с помощью антител к рецептору эпидермального фактора роста (EGF) [35] инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I) [24], а также антител к сосудистому эндотелиальному фактору роста (VEGF) [78].

С позиции доступности антигенов-мишеней для циркулирующих в кровотоке антител большой интерес представляют опухоль-селективные эндотелиальные белки, представленные на люминальной (т.е. обращённой в просвет микрососуда) мембране. Хорошо известно, что в процессе опухолевого неоангиогенеза происходит дедифференцировка и повышенная пролиферация эндотелиоцитов, сопровождаемая с одной стороны потерей белков-маркеров барьерного эндотелия [79-82] и, в частности, белков плотных контактов [83], а с другой стороны - повышенной экспрессией других белков, ассоциированных с неоангиогенезом и отсутствующих в дефинитивном эндотелии [84]. Помимо уже упомянутого интегрин $\alpha_v\beta_3$, локализованного как на глиомных клетках, так и на неопластических эндотелиоцитах, известны ещё по крайней мере три белка, экспрессия которых в эндотелиальных клетках опухолей резко повышена по сравнению с нормой. К ним относятся такие белки, как: PAL-E (*Pathologische Anatomie Leiden-Endothelium*) [85, 86], плазматический везикуло-ассоциированный белок PV-1 (*Plasmalemmal Vesicle Associated Protein-1*) [87, 88] (у мышей этот белок обозначается MECA 32 [89]) и белок адгезивных контактов коннексин-43 (Cx43) [84, 90]. Эти белки практически отсутствуют в нормальных высокодифференцированных эндотелиоцитах, образующих ГЭБ, и появляются лишь в процессе опухолевого неоангиогенеза.

Ниже мы рассмотрим примеры радиоиммунодиагностики с некоторыми из перечисленных антигенов-мишеней, которые, на наш взгляд, наиболее перспективны для клинического внедрения.

Таблица 1. Белки клеточной адгезии и межклеточного матрикса, экспрессирующиеся в клетках глиомы С6.

Название	Лиганд (субстрат), функция	Ссылка
Белки клеточной адгезии, регуляторные белки		
Интегрин- $\alpha_3\beta_1$	Ламинин, коллаген, фибронектин, другие интегрины. Регулировка миграции клеток, ангиогенеза	Brooks, P.C. et al. 1994 [75] Cai W, Chen X. 2006 [76] Malek-Hedayat and Rome 1992 [91]
Интегрин- $\alpha_5\beta_1$		
Интегрин- $\alpha_v\beta_3$		
Белок клеточной адгезии нервных клеток L1 (NCAM L1)	Гомофильное связывание, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$	Izumoto et al. 1996 [92]
Белок клеточной адгезии нервных клеток 120/140 (NCAM 120/140)		Bhat and Silverberg 1987 [93]
Белок межклеточной адгезии (ICAM)	Гомофильное связывание, интегрины	Dietrich et al. 2000 [94]
Рецепторный белок-тирозин-фосфатаза β (RPTP β)	NCAM F3, тенаascin, Ng-CAM	Sakurai et al. 1996 [95]
CD44 HA,	Витронектин, ламинин, фибронектин, коллаген	Merzak et al. 1994 [96]
S100, связанный с S100 белок A42, антиген Ad1, кофилин, проэнкефалины, галектин 1	Нейроспецифические белки и регуляторные пептиды	Gunnarsen et al. 2000 [97]
Белки внеклеточного матрикса, секретирующиеся белки и ферменты		
Тенаascin, витронектин	Построение внеклеточного матрикса, передача клеточных сигналов	Yavin et al. 1991 [98]
Остеопонтин		Gunnarsen et al. 2000 [97]
Ламинин, фибронектин		Westermann et al. 1989 [99]
Фосфакан (Phosphacan)		Sakurai et al. 1996 [95]
Нексин		Halfter et al. 1989 [100]
Ангиотензиноген	Регуляторные пептиды	Sernia and Thomas 1994 [101]
Ангиотензин II		Jaiswal et al. 1991 [102]
Тканевой ингибитор матриксных металлопротеаз 2 (TIMP-2)	Инактивация матриксных металлопротеиназ	Zwijzen 1994 [103]
Предшественник амилоида (Amyloid precursor protein, Appican APP)	Синтез амилоида, передача межклеточных сигналов	Morato and Mayor 1993 [104]
Мембранная матриксная металлопротеаза типа 1 (MT1-MMP)	Протеолитическая деградация белков интерстициальной жидкости и межклеточного матрикса, регуляторных пептидов	Belien et al. 1999 [105]
Матриксные металлопротеиназы 2, 9 (MMP2, MMP9)		Esteve et al. 1998 [106] Vaithilingam et al. 1995 [107]
Эндопептидаза 22.19		Ferro et al. 1993 [108]
Внеклеточная супероксиддисмутаза (ECSOD)	Инактивация свободных радикалов, антиоксидантное действие	Willems et al. 1993 [109]

АНТИТЕЛА В ДИАГНОСТИКЕ ГЛИОМ

Таблица 2. Факторы роста, цитокины и их рецепторы, экспрессирующиеся в клетках глиомы С6.

Название	Ссылка
Рецепторы ростовых факторов, гормонов, регуляторных пептидов	
Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) (в том числе — лиганд-независимый продукт мутации EGFRvIII)	<i>Zaheer et al. 1995 [110]</i>
Рецептор тромбоцитарного фактора роста (PDGFR)	<i>Watanabe et al. 1999 [111]</i>
Рецептор трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF β 1R)	<i>Yarden Y. 2001 [112]</i>
Рецептор основного фактора роста фибробластов (bFGFR)	
Рецептор фактора роста нервов (NGFR)	<i>Kumar et al. 1990 [22]</i>
Рецептор инсулиноподобного фактора роста IGFR	<i>Resnicoff et al. 1994 [113]</i>
Рецептор васкулярного эндотелиального фактора роста (VEGFR)	<i>Plate et al. 1993 [114]</i>
Рецептор эндотелина-1	<i>Couraud et al. 1991 [115]</i>
Рецептор холецистокинина В (CCKBR)	<i>Kaufmann et al. 1995 [116]</i>
Рецептор глюкокортикоидных гормонов	<i>Mizuno et al. 1997 [117]</i>
Рецептор бомбезина	<i>Wang et al. 1992 [118]</i>
Рецептор гиалуронан-опосредованной подвижности (RHAMM)	<i>Gunnersen et al. 2000 [97]</i>
Ростовые факторы, цитокины	
Инсулиноподобный фактор роста (IGF-I)	<i>Kiess et al. 1989 [23]</i>
Васкулярно-эндотелиальный фактор роста (VEGF)	<i>Plate et al. 1993 [114]</i>
Тромбоцитарный фактор роста AB (PDGF-AB)	<i>Strawn et al. 1994 [119]</i>
Трансформирующий фактор роста- $\alpha\beta$, TGF- $\alpha\beta$,	<i>Buchanan et al. 2000 [120]</i>
Основной фактор роста фибробластов (FGF-2, bFGF)	<i>Gross et al. 1990 [121]</i>
Фактор роста нервов (NGF)	<i>Fukumoto et al. 1997 [122]</i>
Белки 1-5, связывающие инсулиноподобный фактор роста (1, 2, 3, 4, 5 IGFBP)	<i>Wang et al. 1997 [123]</i>
Фактор капиллярной/сосудистой проницаемости (capillary/vascular permeability factor CPF/VPF)	<i>Ohnishi et al. 1990 [124]</i>
Фактор созревания глии (glia maturation factor, GMF)	<i>Lim et al. 1987 [125]</i>

4. РАДИОИММУНОДИАГНОСТИКА.

Первые исследования по радиоиммунологической диагностике внутричерепных опухолей были выполнены еще до внедрения нейровизуализации и поэтому были очень интересны в научном и практическом отношении [35]. Развитие современных методов детекции радиоизотопов (позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ, SPECT)), многократно превосходящих по чувствительности рентгеновскую и магниторезонансную томографию (МРТ), вновь повысило интерес исследователей к радиоиммунодиагностике. Концепция радиоиммунодиагностики предполагает, что если вводимые антитела обладают необходимой специфичностью, а антиген, распознаваемый ими, представлен на опухолевых клетках в достаточном количестве, то накопление этих антител в пределах опухоли можно визуализировать с помощью детекции излучения радиоизотопа (например, в сцинтилляционной гамма-камере). Преимуществом такой диагностики перед обычными методами нейровизуализации является более специфичная визуализация глиомных клеток, в том числе и тех, которые образуют мелкие участки периваскулярной инвазии, незаметные при рутинной контрастной магниторезонансной томографии.

С развитием технологии контрастирования МРТ появились весьма интересные методы, основанные на применении антител при этом методе визуализации. Например, можно многократно усилить чувствительность томографии путем введения опухоль-специфических моноклональных антител, конъюгированных с магнитными наночастицами [130, 131]. Конъюгация хелатных соединений гадолиния с антителами или включение МРТ-контрастных веществ в состав иммунолипосом также может позволить визуализировать опухоли, которые сами по себе не накапливают эти контрастные вещества [132]. В частности, в экспериментах на животных с применением МРТ была показана высокая тропность к очагу опухоли парамагнитных липосом, конъюгированных с антителами к интегрину $\alpha_v\beta_3$ [133].

Появление ПЭТ с 18-фтор-дезоксиглюкозой (^{18}F FDG-ПЭТ) и другими субстратами-трейсерами открыло новые возможности в диагностике глиом [134]. ^{18}F FDG-ПЭТ основана на том, что опухолевые клетки, характеризующиеся высоким метаболизмом глюкозы, в большом количестве экспрессируют соответствующие транспортеры. Вследствие этого, ^{18}F FDG, захватываемая так же, как и глюкоза, очень быстро накапливается в очаге опухоли. Короткоживущий изотоп [^{18}F] содержит “лишний” протон, который в процессе распада превращается в нейтрон, позитрон и нейтрино. Реакция аннигиляции, возникающая в результате взаимодействия позитрона с электроном из ближайшего окружения, сопровождается испусканием в противоположных направлениях двух γ -квантов с одинаково высокой энергией (511 кэВ). Регистрация этого излучения сцинтилляционным детектором ПЭТ-сканера позволяет очень точно воссоздать функционально активную структуру, утилизовавшую ^{18}F FDG [135]. Чувствительность этого метода очень высока, он позволяет получить ценную прогностическую информацию о степени злокачественности глиомы и эффективности радиотерапии [136]. Однако захват ^{18}F FDG не является строго опухолеспецифичным и может наблюдаться в очагах воспаления и в нормальных активно пролиферирующих тканях. Поэтому большие надежды возлагаются на сочетание чувствительности ПЭТ со специфичностью радиоиммунодиагностики [38]. Это сочетание может реализоваться по мере развития многокомпонентных систем радиоиммунодиагностики (*Pretargeting*). Быстро элиминирующиеся из кровотока и накапливающиеся в опухоли гаптены биспецифических антител возможно конъюгировать с короткоживущими изотопами с позитронной эмиссией (^{68}Ga и ^{64}Cu) [137]. Подобные разработки, посвященные созданию многокомпонентных систем ПЭТ-диагностики карцином, уже проводятся [138, 139], что позволяет надеяться на создание аналогичных систем и для диагностики глиом.

Многокомпонентные системы *Pretargeting*, позволяющие включить в низкомолекулярный гаптен короткоживущие (“жесткие”) γ -изотопы (например, ^{99m}Tc), можно весьма эффективно применять при однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (SPECT) [3]. Эксперименты *in vivo* показали, что двухкомпонентная система, состоящая из мультивалентных биспецифических антител против СЕА и ^{99m}Tc -меченного пептидного гаптена, с высокой чувствительностью визуализирует экспериментальную колоректальную карциному [140]. Динамическое исследование распределения γ -изотопа выявило, что радиоактивный гаптен, введенный после захвата немеченных биспецифических антител опухолью, уже через 10 мин локализуется в очаге карциномы. Через 20 и 40 мин накопление гаптена в опухоли было существенно выше, чем в сердце и почках соответственно; через час после введения радиоактивность определялась только в очаге опухоли и мочевом пузыре; через 6 и 24 часа - только в опухоли. В контрольном эксперименте при одномоментном введении Fab-фрагментов тех же антител, меченных ^{99m}Tc , в течение 6 часов наблюдалась высокая радиоактивность органов и крови, и даже через 24 часа радиоактивность в опухоли была ниже, чем в почках. Отношение опухоль/кровь для системы бивалентные антитела - ^{99m}Tc -гаптен было в 40 раз выше, чем для антител, меченных напрямую, а накопление метки в очаге карциномы - в 10 раз [140]. Этот эксперимент еще раз продемонстрировал очевидные преимущества многокомпонентных систем радиоиммунной локализации по сравнению с просто мечеными антителами. В настоящее время созданы аналогичные системы двухкомпонентной радиоиммунной диагностики колоректальной карциномы, рака легкого и щитовидной железы; некоторые из них уже применяются в клинике [141-143].

Исследования, проведенные в нашей лаборатории [70, 144], показали значительное повышение экспрессии глиофибрилярного кислого белка (GFAP) в реактивных астроцитах, окружающих очаг экспериментальной глиомы С6. GFAP-положительные астроциты появляются вокруг глиомы на седьмой-восьмой день после внутримозговой имплантации клеток и сохраняются в большом количестве в течение всего периода роста опухоли. При этом реактивные астроциты окружают не только основной очаг опухоли, но и более мелкие участки перивазальной и периневральной инвазии. Исходя из этой особенности локализации GFAP-положительных клеток, мы попытались осуществить направленный транспорт меченных ^{125}I антител к GFAP в область экспериментальной глиомы. Результаты проведенных экспериментов показали, что радиоактивно меченные анти-GFAP способны накапливаться по периферии экспериментальной глиомы С6 в среднем в 25 раз больше, чем в интактной нервной ткани [144].

Преимущество GFAP как антигена-мишени для радиоиммунодиагностики перед тенаксином и фибронектином, применяемыми в других исследованиях, заключается в его строгой специфичности для нервной ткани - этот белок синтезируется только реактивной астроглией. В отличие от GFAP, тенаксин, фибронектин и другие антигены-мишени в значительном количестве экспрессируются в печени и селезенке. Учитывая возможности современной SPECT, можно предполагать, что радиоактивно меченные антитела к GFAP, наряду с другими опухоль-специфическими белками, могут быть применены для визуализации с помощью SPECT мелких очагов инвазии глиобластомы, окруженных реактивными астроцитами. В нашей лаборатории также получены моноклональные антитела 2mB6, распознающие эндотелиальный антиген AMVB1, экспрессия которого в микрососудах глиомы С6 гораздо выше, чем в нормальных клетках [70]. В настоящее время исследуются перспективы применения этих антител для направленного транспорта радиоизотопов.

Совсем недавно появились сообщения о создании системы для ПЭТ, специфически визуализирующей интегрин $\alpha_v\beta_3$ [145]. Экспрессия интегрин $\alpha_v\beta_3$ тесно ассоциирована с опухолевым ангиогенезом, запускаемым VEGF,

и образованием метастазов; в нормальных (дефинитивных) эндотелиальных клетках, также как в неопуховом эпителии этот белок не экспрессируется. Как известно, наиболее активный VEGF-опосредованный ангиогенез наблюдается при самых низкодифференцированных опухолях [146, 147]. Вследствие этого, уровень экспрессии $\alpha_v\beta_3$ опухолевыми клетками и активированными активно пролиферирующими эндотелиоцитами позволяет не просто диагностировать опухолевый процесс, но и судить о его злокачественности и метастатическом характере. Кроме того, мониторинг уровня экспрессии этого белка позволяет оценить прогноз и эффективность проводимой терапии [148]. Количественный анализ этого интегрина стал возможным после разработки радиофармпрепарата для ПЭТ и SPECT на основе меченного ^{18}F димерного или мультимерного пептида RGD, специфически взаимодействующего с молекулой $\alpha_v\beta_3$ [145].

Приведенные примеры показывают, что новые высокоспецифические системы радиоиммунной локализации на основе антител к белкам опухоли в ближайшем будущем могут стать альтернативой основному современному методу функциональной диагностики опухолей — ПЭТ с ^{18}F FDG.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Проведенный анализ литературы и наши собственные результаты позволяют заключить, что моноклональные антитела к опухоль-специфическим антигенам могут быть применены для доставки в опухоль диагностических препаратов (короткоживущие и ультракороткоживущие радиоизотопы, контрастные вещества, парамагнитные наночастицы и др.).

Направленный транспорт меченых антител в опухоль с целью её визуализации или терапии может быть осуществлен лишь при высокой специфичности антител к клетке-мишени и доступности антигена для антител после их внутривенного введения. Поэтому наибольший интерес для радиоиммунодиагностики, с нашей точки зрения, представляют опухоль-селективные белки-мишени, экспрессированные на люминальной мембране эндотелиоцитов неопластических капилляров (интегрин $\alpha_v\beta_3$, рецепторы VEGFR, IGFR, EGFR) [149].

Развитие технологии многокомпонентных систем с применением в качестве метки высокоэнергетических γ -изотопов и ультракороткоживущих изотопов с позитронной эмиссией уже в настоящее время делает возможным создание высокоселективных трейсеров для радиоиммунодиагностики. Эта технология может значительно увеличить чувствительность и специфичность таких методов как сцинтиграфия, SPECT и ПЭТ и, тем самым, существенно расширить спектр современных методов диагностики глиобластомы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gupta T., Sarin R. (2002) *Lancet Oncol.*, **3**, 557-564.
2. Stewart L.A. (2002) *Lancet*, **359**, 1011-1018.
3. Zalutsky M.R. (2005) *J. Nucl. Med.*, **46**(Suppl.), 151S-156S.
4. Grobben B., De Deyn P.P., Slegers H. (2002) *Cell Tissue Res.*, **310**, 257-270.
5. Kusuvara H., Sugiyama Y. (2005) *NeuroRx*, **2**(1), 73-85.
6. Chang C.H., Sharkey R.M., Rossi E.A. et al. (2002) *Mol. Cancer Ther.*, **1**, 553-563.
7. Pressman D., Keighley G. (1948) *J. Immunol.*, **59**, 141-146.
8. Gold P., Freedman S.O. (1965) *J. Exp. Med.*, **121**, 439-462.
9. Bergstrand C.G., Czar B. (1956) *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **8**, 174-179.
10. Абелев Г.И., Перова С.Д., Храмова Н.И., Постникова З.А. и др. (1963) *Биохимия*, **28**, 625-634.
11. Goldenberg D.M., Deland F., Kim E. et al. (1978) *N. Engl. J. Med.*, **298**, 1384-1388.
12. Belitsky P., Ghose T., Aquino J. et al. (1978) *Radiology*, **126**, 515-517.
13. Goldenberg D.M., Kim E.E., Deland F.H. (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 7754-7758.
14. Day E.D., Lassiter S., Woodhall B., Mahaley J.L., Mahaley M.S. (1965) *Cancer Res.*, **25**, 773-778.

15. Köhler G., Milstein C. (1975) *Nature*, **256**, 495-497.
16. Berche C., Mach J.-P., Lumbroso J.-D. et al. (1982) *Br. Med. J.*, **285**, 1447-1451.
17. Larson S.M., Carrasquillo J.A., Krohn K.A. et al. (1983) *J. Clin. Invest.*, **72**, 2101-2114.
18. Epenetos A.A., Nimmon C.C., Arklie J. et al. (1982) *Br. J. Cancer.*, **46**, 1-8.
19. Brady L.W., Miyamoto C., Woo D.V. et al. (1992) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **22**, 225-230.
20. Kalofonos H.P., Pawlikowska T.R., Hemingway A. et al. (1989) *J. Nucl. Med.*, **30**, 1636-1645.
21. Mamot C., Drummond D.C., Greiser U. et al. (2003) *Cancer Res.*, **63**, 3154-3161.
22. Kumar S., Huber J., Pena L.A. et al. (1990) *J. Neurosci. Res.*, **27**, 408-417.
23. Kiess W., Lee L., Graham D. E. et al. (1989) *Endocrinology*, **124**, 1727-1736.
24. Trojan J., Cloix J.-F., Ardourel M.-Y. (2007) *Neuroscience*, **145**, 795-811.
25. Moosmayer D., Berndorff D., Chang C.H. (2006) *Clin. Cancer Res.*, **12**, 5587-5595.
26. Spaeth N., Wyss M.T., Pahnke J. (2006) *Nucl. Med. Biol.*, **33**, 661-666.
27. Akabani G., Reardon D.A., Coleman R.E. et al. (2005) *J. Nucl. Med.*, **46**, 1042-1051.
28. Axworthy D.B., Fritzberg A.R., Hylarides M.D. et al. (1994) *J. Immunother.*, **16**, 158.
29. Leins A., Riva P., Lindstedt R., Davidoff M.S. et al. (2003) *Cancer*, **98**, 2430-2439.
30. Riva P., Franceschi G., Riva N., Casi M., Santimaria M., Adamo M. (2000) *Eur. J. Nucl. Med.*, **27**, 601-609.
31. Sampson J.H., Akabani G., Friedman A.H. et al. (2006) *Neurosurg. Focus*, **20**, E14.
32. Zalutsky M.R., Moseley R., Benjamin J.C. et al. (1990) *Cancer res.*, **50**, 4105-4110.
33. Gupta B., Levchenko T.S., Mongayt D.A., Torchilin V.P. (2005) *J. Drug Targeting*, **13**, 337-343.
34. Shapiro W.R., Carpenter S., Roberts K., Shan J.S. (2006) *Expert. Opin. Biol. Ther.*, **6**, 539-545.
35. Davies A.G., Richardson R.B., Bourne S.P. et al. (1989) In: *Tumors of the brain* (Bleehen N.M., ред.). Berlin: Springer, pp. 83-99.
36. Paganelli G., Bartolomei M., Grana C. et al. (2006) *Neurol. Res.*, **28**, 518-522.
37. Cohen S.N., Chang A.C., Boyer H.W., Helling R.B. (1973) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**(11), 3240-3244.
38. Goldenberg D.M., Sharkey R.M., Paganelli G., Barbet J., Chatal J.-F. (2006) *J. Clin. Oncol.*, **24**, 824-834.
39. Liu L., Barth R.F., Adams D.M. et al. (1996) *Anticancer Res.*, **16**, 2581-2588.
40. Street H.H., Goris M.L., Fisher G.A. et al. (2006) *Cancer Biother. Radiopharm.*, **21**, 243-256.
41. Yu L., Ju D.W., Chen W. et al. (2006) *Cancer Biother. Radiopharm.*, **21**, 5-14.
42. Reardan D.T., Meares C.F., Goodwin D.A. et al. (1985) *Nature*, **316**, 265-268.
43. Goodwin D.A., Meares C.F., McCall M.J. et al. (1988) *J. Nucl. Med.*, **29**, 226-234.
44. Goodwin D.A., Meares C.F. (2001) *Biotechnol. Adv.*, **19**, 435-450.
45. Boerman O.C., van Schaijk F.G., Oyen W.J. et al. (2003) *J. Nucl. Med.*, **44**, 400-441.
46. Moro M., Pelagi M., Fulci G. et al. (1997) *Cancer Res.*, **57**, 1922-1928.
47. Paganelli G., Pervez S., Siccaldi A.G. et al. (1990) *Int. J. Cancer*, **45**, 1184-1189.
48. Saga T., Weinstein J.N., Jeong J.M. et al. (1994) *Cancer Res.*, **54**, 2160-2165.
49. Rossi E.A., Sharkey R.M., McBride W. et al. (2003) *Clin. Cancer. Res.*, **9**, 3886s-3896s.
50. Sharkey R.M., Goldenberg D.M. (2005) *J. Nucl. Med.*, **46**, 115S-127S.
51. Rossi E.A., Chang C.-H., Losman M.J. et al. (2005) *Clin. Cancer. Res.*, **11**, 7122s-7129s.
52. Le Doussal J.M., Chetanneau A., Gruaz-Guyon A. et al. (1993) *J. Nucl. Med.*, **34**, 1662-1671.
53. He J., Liu G., Gupta S. et al. (2004) *J. Nucl. Med.*, **45**, 1087-1095.
54. Bagshawe K.D., Sharma S.K., Begent R.H. (2004) *Expert. Opin. Biol. Ther.*, **4**, 1777-1789.
55. Axworthy D.B., Reno J.M., Hylarides M.D. et al. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 1802-1807.

56. *Cheung N.K., Modak S., Lin Y. et al.* (2004) *J. Nucl. Med.*, **45**, 867-877.
57. *Glick B.R., Pasternak J.J.* (2002) *Molecular Biotechnology. Principles and applications of recombinant DNA*. II ed. ASM Press. Washington.
58. *Wu H., Beuerlein G., Nie Y., Smith H., Lee B.A., Hensler M., Huse W.D., Watkins J.D.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 6037-6042.
59. *Fietz T., Thiel E.* (2007) *Recent Results Cancer Res.*, **176**, 153-163.
60. *Kaminski M.S., Zelenetz A.D., Press O.W. et al.* (2001) *J. Clin. Oncol.*, **19**, 3918-3928.
61. *Fenton C., Perry C.M.* (2006) *BioDrugs*, **20**, 137-139.
62. *DeNardo G.L.* (2005) *Semin. Oncol.*, **32**, 27-35.
63. *Baselga J., Carbonell X., Castalleda-Soto N.J. et al.* (2005) *J. Clin. Oncol.*, **23**, 2162-2171.
64. *Gutheil J.C., Campbell T.N., Pierce P.R. et al.* (2000) *Clin. Cancer Res.*, **6**, 3056-3061.
65. *Wu G., Barth R. F., Yang W. et al.* (2006) *Mol. Cancer Ther.*, **5**, 52-59.
66. *Sanson M., Laigle-Donadey F., Benouaich-Amiel A.* (2006) *Curr. Opin. Oncol.*, **18**, 623-630.
67. *Sampson J.H., Archer G.E., Bigner D.D.* (1999) In: *Neurosurgery: The scientific basis of clinical practice* (Clockard A., Hayward R., Hoff J.T., ред.). Oxford: Blackwell Science.
68. *Auer R., Del Maestro R.F., Anderson R.* (1981) *Can. J. Neurol. Sci.*, **8**, 325-331.
69. *Holland E.C.* (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 6242-6244.
70. *Чехонин В.П., Баклаушев В.П., Юсубалиева Г.М. и соавт.* (2007) *Клеточные технологии в биологии и медицине*. №2, 65-73.
71. *Nagano N., Sasaki H., Aoyagi M., Hirakawa K.* (1993) *Acta. Neuropathol.*, **86**, 117-125.
72. *Whittle I.R., MacArthur D.C., Malcom G. et al.* (1998) *J. Neurooncol.*, **36**, 231-242.
73. *Demchik L., Sameni M., Nelson K. et al.* (1999) *Int. J. Dev. Neurosci.*, **17**, 483-494.
74. *Rempel S.A., Rosenblum M.L., Mikkelsen T. et al.* (1994) *Cancer Res.*, **54**, 6027-6031.
75. *Brooks P.C., Montgomery A.M., Rosenfeld M. et al.* (1994) *Cell*, **79**, 1157-1164.
76. *Cai W., Chen X.* (2006) *Anticancer Agents Med. Chem.*, **6**(5), 407-428.
77. *Shapiro J.R.* (2001) *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.*, **15**, 961-977.
78. *Cabebe E., Wakelee H.* (2007) *Curr. Treat. Options. Oncol.*, **8**, 15-27.
79. *Lawrenson J.G., Ghabriel M.N., Reid A.R. et al.* (1995) *J. Anat.*, **186**, 217-221.
80. *Lin B., Ginsberg M.D.* (2000) *Brain Res.*, **865**, 237-244.
81. *Sternberger N.H., Sternberger L.A.* (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 8169-8173.
82. *Sternberger N.H., Sternberger L.A., Kies M.W., Shear C.R.* (1989) *J. Neuroimmunol.*, **21**, 241-248.
83. *Wolburg H., Lippoldt A.* (2002) *Vasc. Pharmacol.*, **38**, 323-337.
84. *Errede M., Benagiano V., Girolamo F. et al.* (2002) *Histochem. J.*, **34**, 265-271.
85. *Leenstra S., Troost D., Das P.K. et al.* (1993) *Cancer*, **72**, 3061-3067.
86. *Schlingemann R.O., Hofman P., Vrensen G.F., Blaauwgeers H.G.* (1999) *Diabetologia*, **42**, 596-602.
87. *Carson-Walter E.B., Hampton J., Shue E. et al.* (2005) *Clin. Cancer. Res.*, **11**, 7643-7650.
88. *Hnasko R., Frank P.G., Ben-Jonathan N., Lisanti M.P.* (2006) *Cell Cycle*, **17**, 2012-2020.
89. *Hallmann R., Mayer D. N., Berg E.L. et al.* (1995) *Dev. Dyn.*, **202**, 325-332.
90. *Lin J.H., Takano T., Cotrina M.L. et al.* (2002) *J. Neurosci.*, **22**, 4302-4311.
91. *Malek-Hedayat S., Rome L.H.* (1992) *J. Neurosci. Res.*, **31**, 470-478.
92. *Izumoto S., Ohnishi T., Arita N. et al.* (1996) *Cancer Res.*, **56**, 1440-1444.
93. *Bhat S., Silverberg D.H.* (1987) *Brain Res.*, **26**, 144-147.
94. *Dietrich J.B., Zaepfel M., Kuchler-Bopp S.* (2000) *Neuroreport*, **11**, 2855-2860.
95. *Sakurai T., Friedlander D.R., Grumet M.* (1996) *J. Neurosci. Res.*, **43**, 694-706.
96. *Merzak A., Koocheckpour S., Pilkington G.J.* (1994) *Cancer Res.*, **54**, 3988-3992.
97. *Gunnarsen J.M., Spirkoska V., Smith P.E.* (2000) *Glia*, **32**, 146-154.

98. Yavin E., Gabai A., Gil S. (1991) *J. Neurochem.*, **56**, 105–112.
99. Westermann R., Mollenhauer J., Johannsen M., Unsicker K. (1989) *Int. J. Dev. Neurosci.*, **7**, 219–230.
100. Halfter W., Reinhard E., Liverani D. (1989) *Eur. J. Neurosci.*, **1**, 297–308.
101. Sernia C., Thomas W.G. (1994) *J. Neurochem.*, **62**, 1296–1301.
102. Jaiswal N., Diz D.I., Tallant E.A. et al. (1991) *Am. J. Hypertens.*, **4**, 228–233.
103. Zwijsen A. (1994) Identification of growth factors and inhibitors of neutrophilic activities secreted by rat C6 glioma. Ph. D. thesis. University of Antwerp, Belgium.
104. Morato E., Mayor F. Jr. (1993) *FEBS Lett.*, **336**, 275–278.
105. Belien A.T., Paganetti P.A., Schwab M.E. (1999) *J. Cell Biol.*, **144**, 373–384.
106. Esteve P.O., Tremblay P., Houde M. et al. (1998) *Biochim. Biophys. Acta.*, **1403**, 85–96.
107. Vaithilingam I.S., McDonald W., Malott D.A., Del Maestro R.F. (1995) *J. Biol. Chem.*, **270**, 4588–4593.
108. Ferro E.S., Tambourgi D.V., Gobersztejn F. et al. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **191**, 275–281.
109. Willems J., Zwijsen A., Slegers H. et al. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 24614–24621.
110. Zaheer A., Zhong W., Uc E.Y. et al. (1995) *Cell Mol. Neurobiol.*, **15**, 221–237.
111. Watanabe T., Katayama Y., Kimura S., Yoshino A. (1999) *J. Neurooncol.*, **41**, 121–128.
112. Yarden Y. (2001) *Eur. J. Cancer*, **37**(Suppl. 4), S3–S8.
113. Resnicoff M., Sell C., Rubini M. et al. (1994) *Cancer Res.*, **54**, 2218–2222.
114. Plate K.H., Millauer B., Ullrich A., Risau W. (1993) *Cancer Res.*, **53**, 5822–5827.
115. Couraud P.O., Durieu T., Nguyen D.L. et al. (1991) *Eur. J. Pharmacol.*, **206**, 191–198.
116. Kaufmann R., Henklein P., Nowak G. (1995) *Neuropeptides.*, **29**, 241–244.
117. Mizuno H., Uenura K., Moriyama A. et al. (1997) *Brain Res.*, **746**, 256–268.
118. Wang L.H., Battey J.F., Wada E. et al. (1992) *Biochem. J.*, **286**, 641–648.
119. Strawn L.M., Mann E., Elliger S.S. et al. (1994) *J. Biol. Chem.*, **33**, 21215–21222.
120. Buchanan C.D., Mahesh V.B., Brann D.W. (2000) *Biol. Reprod.*, **62**, 1710–1721.
121. Gross J.L., Morrison R. S., Eidsvoog K. et al. (1990) *J. Neurosci. Res.*, **27**, 689–696.
122. Fukumoto H., Kakihana M., Kaisho Y., Suno M. (1997) *Brain Res.*, **774**, 87–93.
123. Wang Z.H., Ma J., Zeng B.J. et al. (1997) *Neuroendocrinology*, **66**, 203–211.
124. Ohnishi T., Sher P.B., Posner J.B., Shapiro W.R. (1990) *J. Neurosurg.*, **72**, 245–251.
125. Lim R., Hicklin D.J., Ryken T.C., Miller J.F. (1987) *Brain Res.*, **430**, 49–57.
126. Verity A.N., Wyatt T.L., Hajos B. et al. (1998) *J. Neurochem.*, **70**, 531–539.
127. Larsson I., Landström L.E., Larner E. et al. (1978) *Infect. Immun.*, **22**, 786–789.
128. Slegers H., Joniau M. (1996) *J. Neurochem.*, **66**, 466–473.
129. Fages C., Kakson M., Kinnunen T. et al. (1998) *J. Cell. Sci.*, **111**, 3073–3080.
130. Montet X., Montet-Abou K., Reynolds F. et al. (2006) *Neoplasia*, **8**, 214–222.
131. Reddy G. R., Bhojani M.S., McConville et al. (2006) *Clin. Cancer Res.*, **12**, 6677–6686.
132. Wong E.T. (2005) *Clin. Cancer Res.*, **11**(19 Pt 2), 7151s–7157s
133. Sipkins D.A., Cheres D.A., Kazemi M.R. et al. (1998) *Nat. Med.*, **4**, 623–626.
134. Kelloff G.J., Hoffman J.M., Johnson B. et al. (2005) *Clin. Cancer Res.*, **11**, 2785–2808.
135. Tai Y.F., Piccini A. (2004) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, **75**, 669–676.
136. Patronas N.J., Di Chiro G., Kufta C. et al. (1985) *J. Neurosurg.*, **62**, 816–822.
137. Griffiths G.L., Chang C.H., McBride W.J. et al. (2004) *J. Nucl. Med.*, **45**, 30–39.
138. Lewis M.R., Wang M., Axworthy D.B. et al. (2003) *J. Nucl. Med.*, **44**, 1284–1292.
139. Schuhmacher J., Kaul S., Klivenyi G. et al. (2001) *Cancer Res.*, **61**, 3712–3717.
140. Sharkey R.M., Cardillo T.M., Rossi E.A. et al. (2005) *Nature Med.*, **11**, 1250–1255.
141. Barbet J., Peltier P., Bardet S. et al. (1998) *J. Nucl. Med.*, **39**, 1172–1178.
142. Chetanneau A., Barbet J., Peltier P. et al. (1994) *Nucl. Med. Commun.*, **15**, 972–980.

143. *Vuillez J., Moro D., Brichon Y. et al.* (1997) *J. Nucl. Med.*, **38**, 507-511.
144. *Чехонин В.П., Баклаушев В.П., Юсубалиева Г.М. и соавт.* (2008) Док. РАН, **418**(5), 1-4.
145. *Zhang X., Xiong Z., Wu Y. et al.* (2006) *J. Nucl. Med.*, **47**, 113-121.
146. *De S., Razorenova O., McCabe N.P. et al.* (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 7589-7594.
147. *Robinson S.D., Reynolds L.E., Wyder L. et al.* (2004) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **24**, 2108-2114.
148. *Haubner R., Wester H.J.* (2004) *Curr. Pharm. Des.*, **10**, 1439-1455.
149. *Sorial J.-C., Fayette J., Armand J.* (2004) *Ann. Oncol.*, **15**(Suppl. 4), iv223-iv227.

Поступила: 11. 01. 2008.

MONOCLONAL ANTIBODIES IN DIAGNOSTICS OF HIGH-GRADE GLIOMAS

V.P. Baklaushev, K.A. Pavlov, V.P. Chekhonin

Laboratory of Immunochemistry Serbsky National Centre for Social and Forensic Psychiatry,
Kropotkinskiy Per. 23, Moscow, Russia; tel.: +7(495)202-28-13; fax: +7 (495)637-50-55;
e-mail: serpoff@mail.ru

The review is focused on the modern methods of radioimmune diagnostics of high-grade gliomas with monoclonal antibodies and other approaches of radioimmunolocalisation with pretargeted bispecific antibodies. High-grade tumor-related proteins were analysed as potential targets for radiolabeled antibodies. Recent experimental and clinical data and the most promising immunochemical approaches for diagnostic and targeted therapy of gliomas with tumor-specific antibodies are discussed.

Key words: glioblastoma multiforme, rat C6 glioma, monoclonal antibodies, radioimmunolocalisation, targeted delivery.