

Памяти лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине за 1977 г. д-ра Rosalyn Yalow

Краткая стенограмма рассказа Rosalyn Yalow (R. Y.) об истории создания метода радиоиммуноанализа (РИА), которую я прослушал в 1985 г. в Вене на ее пленарной лекции на совместном симпозиуме ВОЗ и Международного агентства по атомной энергии. Высококочувствительный метод РИА обеспечил определение биологически активных веществ, циркулирующих в крови в очень низких концентрациях, выявление которых было недоступно для существующих в то время химико-физических методов. РИА-методы обеспечили стремительное развитие эндокринологии как общеприкладной науки и прогресс всей медико-биологической науки и смежных дисциплин.

В своей лекции R. Y. изложила результаты концептуальных исследований и теоретических предпосылок, которые привели к созданию методов РИА. Началом послужила работа I.A. Mirsky (1952) – заслуженного авторитета своего времени в области диабетологии, в которой он выдвинул гипотезу о быстрой деградации введенного инсулина у взрослых больных диабетом с участием фермента инсулиназы.

Располагая такой информацией, говорит R. Y., мы решили проверить гипотезу д-ра Mirsky, для этого внутривенно ввели меченный йодом-131 инсулин больным диабетом и группе здоровых людей. К нашему удивлению мы обнаружили более низкую скорость элиминации меченого инсулина из крови у части больных диабетом по сравнению со здоровыми волонтерами. Результаты этой работы S. Berson, R. Y., A. Vauman et al. были опубликованы в 1956 г. При тщательном анализе результатов данного исследования авторам стало очевидным, что обнаруженная разница в поведении инсулина обусловлена не самим диабетом, а длительностью лечения инсулином. На рис. 1 представлена фармакокинетика введенного инсулина у больных диабетом и здоровых людей (рисунок приводится в оригинале из статьи S. Berson, R. Y., A. Vauman et al. (1956)). Особенно четко видна разница в скорости выведения инсулина из крови у больного MN₁ до назначения инсулиновой терапии (кривая MN₁) и после 4-месячной терапии инсулином (кривая MN₂).

У части больных диабетом во время инсулиновой терапии мы обнаружили замедленное выведение инсулина из крови, а у некоторых пациентов более ускоренное. Мы предположили, что замедленная элиминация инсулина обусловлена не деградацией, а связыванием его антителами, образующимися при проведении курса инсулиновой терапии.

Мы также полагали, что число образующихся антител могло быть недостаточным для их количественного определения классическими биохимическими методами, которые обладали недостаточной чувствительностью. Поэтому мы разработали радиоизотопный метод, обладающий значительно более высокой аналитической чувствительностью для определения растворимого комплекса антиген – антитело. Используя такой метод, продолжала R. Y., мы смогли продемонстрировать, что у людей, получавших инсулиновую терапию, циркулирующий инсулин плазмы связан с глобулином, который по своим характеристикам был схож с антителами. Вместе с тем у людей, не получавших инсулин, характеристика инсулина плазмы соответствовала параметрам пептида с низким молекулярным весом и с физико-химическими параметрами, типичными для свободного инсулина. Приведенные результаты опубликованы в 1956 г., где были впервые представлены доказательства антигенности инсулина, что противоречило догматам того времени. Авторитетный ученый Felix Haugowitz в 1950 г. опубликовал работу, в которой утверждал, что инсулин, равно как и пептидные гормоны гипофиза с относительно низким молекулярным весом, не могут быть антигенами, и исключил возможность их иммунореактивности. Вместе с тем, продолжала R. Y., с помощью высокочувствительных радиоизотопных методов мы доказали, что связанный меченый ¹³¹I-инсулин в присутствии фиксированной концентрации антител количественно зависит от концентрации инсулина, стандартной кривой или от содержания гомологичного инсулина, присутствующего в исследуемом материале. Практически, приведенные результаты работ S. Berson, R. Y. уже в 1956 г. послужили основным фундаментом для последующего создания методов РИА.

Мы приводим 2 оригинальных рисунка (рис. 1 и рис. 3 из работ 1956 г.), которые служат иллюстрацией открытия метода иммуноанализа. На рис. 3 “*FIG. 3. Competing reactions that form the basis of radioimmunoassay*” представлена конструкция, отражающая принцип работы РИА-метода, который не претерпел никаких принципиальных изменений до настоящего времени. Однако их открытие они не могли опубликовать в течение 4 лет, вплоть до 1959–1960 гг. Научное сообщество не было готово принять их доказательства антигенности инсулина и выработки иммунной системой антител к нему. Научные журналы не принимали их работу к публикации. И только после того как были опубликованы исследования, в которых также была подтверждена антигенность инсулина, работы R. Y.

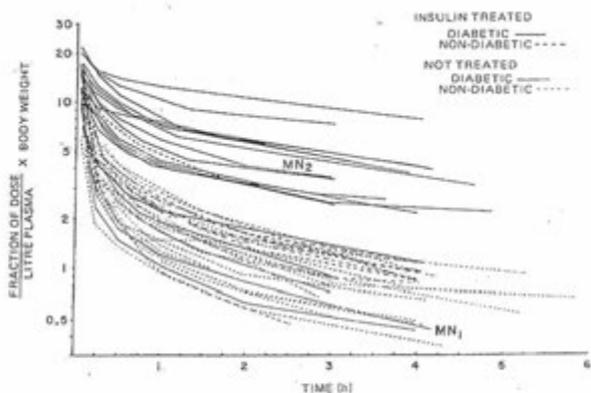


FIG. 1. Trichloroacetic acid precipitable radioactivity in plasma as a function of time following intravenous administration of ^{131}I -insulin to insulin treated and untreated subjects. The disappearance of labelled insulin was retarded in the insulin treated subjects irrespective of whether they had received the hormone for treatment of diabetes or for shock therapy for schizophrenia. The retarded rate is a consequence of binding to insulin antibodies generated in response to administration of animal insulin. Note the slower disappearance from the plasma of patient MN after 4 months of insulin therapy (curve MN₂) than prior to such therapy (curve MN₁).

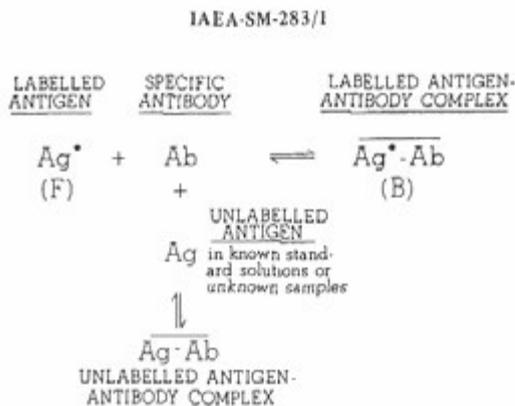


FIG. 3. Competing reactions that form the basis of radioimmunoassay.

и S. Berson были опубликованы в 2 журналах: Nature (London) 1959;184:1648–9 и J Clin Invest 1960;39:1157–75. Открытие новой технологии — метода РИА завоевало в научном сообществе общее признание и получило быстрое развитие. Вскоре РИА-метод стали использовать для определения практически любых биохимических маркеров. Для соединений с низким молекулярным весом, таких как стероиды и др., были получены гаптены, и их антигенность достигалась ковалентной связью гаптенных с крупными белками, например альбумином. Очень быстро РИА-методы начали использовать для определения вирусных, бактериальных и других антигенов. Развитие технологии получения высокоспецифичных поликлональных и особенно моноклональных антител привело к проникновению РИА-методов во все отрасли медицины, биологии, физиологии, ветеринарии.

Создание альтернативных неизотопных методов с использованием в качестве метки флюоресцирующих, хемилюминесцентных соединений еще больше расширило возможности использования методов иммуноанализа. Однако фундаментальный принцип их работы

также основывается на формуле, разработанной R. Y. и S. Berson в 1956 г., приведенной на рис. 3. Появились варианты метода, где используется введение метки не в антиген, а в антитела к нему, что обеспечило более высокую чувствительность метода. Эти методы получили название иммунометрических методов иммуноанализа.

Новаторской работе R. Y. помогло ее образование. В 19 лет она окончила школу при Университете Нью-Йорка, а затем аспирантуру, и одновременно она работала в качестве ассистента кафедры в Университете Иллинойса, где преподавала физику. Там в 1943 г. она встретила Aaron Yalow, за которого впоследствии вышла замуж, он изучал физику в том же университете. До замужества она имела фамилию Sussman. После получения ученой степени доктора по ядерной физике в 1945 г. она вернулась в Hunter College при Университете Нью-Йорка на преподавательскую работу. Не найдя возможности заниматься научными исследованиями, она стала работать волонтером в медицинской лаборатории при Колумбийском университете, где была вовлечена в работу в новой области — лучевой терапии. С 1947 по 1950 г. R. Y. работала в Bronx Veterans Administration Hospital с доктором Bernard Roswit, где оборудовала Janitor's лабораторию и за это время опубликовала 8 научных работ. В 1950 г. она встретила д-ра Solomon Berson, с которым проработала 22 года вплоть до его смерти в 1972 г.

После его ухода из жизни она продолжала публиковать работы, ставя его имя в числе авторов. Это был очень продуктивный союз: R. Y. — специалист в радиационной медицине с методами регистрации радиоактивного сигнала и д-р Berson — клиницист, работающий в Клинике для больных диабетом. Наиболее значимой первой их работой был ответ на вопрос, каким образом радиоизотопный йод захватывается из крови щитовидной железой и почками. Позже такая же техника была применена и для определения инсулина. Д-р R. Y. особенно интересовал инсулин, так как ее муж был болен диабетом. Именно с помощью радиоизотопного метода была впервые доказана иммуногенность инсулина и выработка антител к нему, что и привело к созданию новой технологии — метода РИА.

Д-р R. Y. получила Нобелевскую премию в области физиологии и медицины в 1977 г., одновременно с Andrew V. Schally и Roger Guillemin. Д-р S. Berson, безусловно, должен был также получить премию, но, к сожалению, он не дождал до 1977 г.

Д-р Rosalyn Yalow ушла из жизни в 90 лет (1921–2011). Она навсегда останется в нашей памяти как крупный ученый, чье научное наследие получило глобальное применение во всех областях медико-биологической науки и прежде всего в эндокринологии.

Н.П. Гончаров,
проф., руководитель лаборатории гормонального
анализа ФГБУ «Эндокринологический научный центр»
Минздрава России



РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Mirsky I.A. The etiology of diabetes mellitus in man. *Recent Progr Horm Res* 1952;7:437–67.
2. Wrenshall G.A., Bogach A., Richie R.C. Extractable insulin of pancreas; correlation with pathological and clinical findings in diabetic and nondiabetic cases. *Diabetes* 1952;1(2):87–107.
3. Berson S.A., Yalow R.S., Bauman A. et al. Insulin-I131 metabolism in human subjects: demonstration of insulin binding globulin in the circulation of insulin treated subjects. *J Clin Invest* 1956;35(2):170–90.
4. Haurowitz F. *Chemistry and Biology of proteins*. Academic Press, NY, 1950. 374 p.
5. Yalow R.S., Berson S.A. Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods. *Nature (London)* 1959;184(Suppl 21):1648–9.
6. Yalow R.S., Berson S.A. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J Clin Invest* 1960;39:1157–75.