جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

تولید و کنترل کیفی رادیوداروی Anti-CD20 نشاندار شده با رادیوایزوتوپ I-131 به دو روش کلرآمین-T و یدوژن جهت کاربرد در سرطان سیستم لنفاوی

پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، پژوهشکده کاربرد پرتوها
فریبا جوهری دها*، سمیرا رسانه

چکیده:

در نشاندار سازیبا کلرآمین-T ،هر میلی گرم از آنتی بادی با۵ میلی کوری (بازده ۸۶٪) و با یدوژن با ۳۰ میلی کوری ید-۱۳۱ (بازده ۹۴٪)نشاندار شد.در روش کلرآمین-T۷۰٪ و در روش یدوژن ۸۲٪از آنتی بادی نشاندار شده بعد از ۲۴ ساعت در دمای ٤ درجه سانتیگراد در نرمال سالین پایدار بود. در موش سوری سالم نشان داد که بعد از ۲۴ ساعت حدود ۱۰٪ در جریان خون موجود می باشد.ایمینو ری اکتیویتی درروش کلرآمین-T۳±۵۸٪ و در روش یدوژن ۵±۶۲٪ بود.

کلید واژه: *Anti-CD20،سرطان سیستم لنفاوی، نشاندار سازی با ید-۱۳۱،کلرآمین-T، یدوژن*

مقدمه:

Rituximab با نام های تجاری Riyuxan و MabThera یک آنتی بادی مونوکلونال کایمریک بر علیه پروتئین CD20 است که در ابتدا بر روی سطح سلولهای B سیستم ایمنی بدن یافت شد وبرای درمان بیماریهایی که با تعداد زیاد سلولهای B، سلولهای B با فعالیت بیش از حد یا سلولهای Bنا کار آمد مشخص شده اند، شامل بسیاری از لنفوماها "لوسمی "رد پیوند بافتی و اختلالات اتوایمیون می شود[۱و۲]. لنفومای غیر هوچکین (NHL)یک بدخیمی لنفوسیتها است که در ۸۰٪ موارد منشاء آن از سلولهای B می باشد. با گسترش آنتی بادیهای منوکلونال (mAbs) ایمیونوتراپی با آنها و نشاندار کردن آنها با مواد رادیواکتیو جهت سلولهای لنفوما به عنوان هدف آغاز شد. در بیماران مبتلا به لنفوم فولیکولار مقاوم یا عود کننده، آنتی بادیهای مونوکلونال نظیر Rituximab بطور موفقیت آمیزی مورد استفاده قرار گرفته اند[۳].کلرآمین T یا نمک سدیم n کلرو-٤ متیل- بنزن سولفون آمید، عامل اکسید کننده بوده که I^+ کاتیونیک را از I^-(Iodide)ایجاد می کند تا بر روی ریشه تیروزین آنتی بادی ها قرار گیرد و اولین بار توسط Hunter و Greenwood برای یدیناسیون پروتئینها به کار رفته است [٤]. کلرآمین T در محلولهای مایی، هیپوکلرو اسید تشکیل داده که اسید حاصل اکسیداسیون ملایم مورد نیاز را فراهم می کند. شرایط واکنش یدیناسیون به راحتی با تغییر غلظت مواد واکنش دهنده، درجه حرارت و زمان قابل کنترل می باشد. واکنش یدیناسیون به روش کلرآمین T ، با اضافه کردن عامل احیاء کننده (معمولا" سدیم متا بی سولفیت) به مقدار اضافی خاتمه می یابد[۵].

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

Franker و Speck اولین بار یدوژن را به عنوان معرف یدیناسیون پروتئین ها به کار بردند [٦]. یدوژن یا 1,3,4,6-tetrachloro-3α,6α- Diphenylglycouril بینهایت پایدار بوده و در آب تقریبا" نا محلول است و باعث یدیناسیون سریع در فاز جامد در محلول های مایی ید و پروتئین ها می شود. یدوژن در کلروفرم یا متیلن کلراید حل می شود و سپس از دیواره های داخلی ظرف تبخیر شده و در دسیکاتور نگهداری می شود. مخلوط یدیناسیون حاوی آنتی بادی و $Na^{131}I$ در بافر مناسب به ظرف پوشش داده شده با یدوژن اضافه می شوند. واکنش به صورت Interfaceبه مدت ۵ تا ۱۵ دقیقه ادامه یافته و سپس با انتقال مخلوط واکنش به ظرف دیگری خاتمه می یابد. بنابراین نیازی به اضافه نمودن معرف احیاء کننده یا سانتریفیوژ مخلوط واکنش نمی باشد[7].

روش کار:

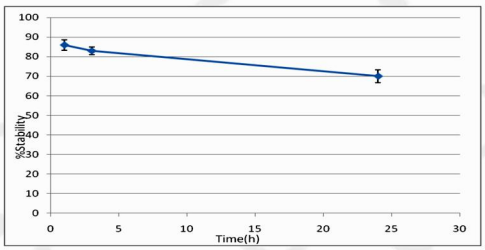
آنتی بادی آنتی CD20 از شرکت اف هافمن- لارویش بازل سوئیس که توسط شرکت شیمی درمانی سبحان رشت بسته بندی و توزیع می شود بصورت ویال حاوی ۱۰۰ میلی گرم آنتی بادی در ۱۰ میلی لیتر تهیه شد.در آیودیناسیون به روش کلرآمین-T، به تیوب حاوی ۱ میلی گرم آنتی بادی بافر فسفات ۰/۵ مولار با pH=7، ۵ میلی کوری سدیم ایوداید-۱۳۱ ، محلول ۲ میلی گرم در میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار اضافه و به مدت ٤٥ ثانیه بهم زده شد، به منظور متوقف کردن واکنش محلول ۲ میلی گرم سدیم متا بی سولفیت در یک میلی لیتر از بافر فسفات ۰/۰۵ مولار و محلول ۱۰ میلی گرم در پتاسیم ایوداید در یک میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار به ظرف واکنش افزوده شد. این مخلوط بلافاصله به منظور جداسازی به ستون سفادکس G-25 منتقل شد و با فاز متحرک فسفات بافر سالین با pH=7شستشو داده شد.پایداری آن در فواصل زمانی ۱و۳ و ٢٤ ساعت با استفاده از روش کروماتوگرافی کاغذی و فاز متحرک فسفات بافر سالین بررسی شد. به منظور بررسی توزیع بیولوژیکی آنتی بادی نشاندار شده با ید-۱۳۱ از موش سوری استفاده شد. آزمایش در سری های ۳ تایی موش سوری انجام گردید به این منظور به هر موش ۱۰۰ میکرولیتر آنتی بادی نشاندار شده با اکتیویته ۱۰۰ میکرو کوری تزریق شد و در زمانهای ٤ ، ٢٤ و ٤٨ ساعت بعد از تزریق موشها با استفاده از گاز دی اکسید کربن کشته شدند و خون، قلب، کبد، کلیه ها، طحال، معده، روده، تیروید، ریه ها، دم و بقیه بدن جدا و در دستگاه شمارنده گاما شمارش شدند، سپس درصد دوز تزریق شده در گرم بافت محاسبه گردید. ایمونوراکتیویته از روش Lindmoمحاسبه شد. تعداد ٦×١٠^{٧} از سلولهای RAJI (آنتی ژن CD20در سطح این سلولها به مقدار زیاد یافت میشود) شمرده و داخل ۱ سی سی محیط کشت شناور شد. در ۵ ظرف دیگر تعداد سلولها را به ترتیب نصف تعداد سلولها در ظرف قبل ریخته، ترکیب $Ritoximab^{131}I$-بر روی سلولها اثر داده شد. بعد از گذشت ۲ ساعت سلولها سانتریفیوژ و چند بار شسته شدند تا فقط اکتیویته متصل به سلولها باقی بماند. منحنی اکتیویته متصل به سلولها بر علیه عکس تعداد سلولها رسم می شود که شیب این منحنی درصد آنتی بادی های نشاندار فعال پس از نشاندارسازی را نشان می دهد.در روش یدوژن ، به لوله پوشش داده شده، ۱ میلی گرمآنتی بادی و ۳۰ میلی کوری سدیم ایوداید(ید-۱۳۱)و بافر سدیم

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

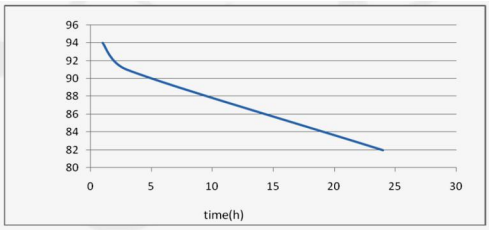
فسفات ۰/۵ مولار pH=7.4اضافه شد. پس از ۱۰ دقیقه بافر سدیم فسفات ۰/۰۵ مولار حاوی ۱ مولار سدیم کلراید pH= 7.4 اضافه و مخلوط به منظور خاتمه واکنش به ویال دیگری منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط انکوبه شد، سپس بافر سدیم فسفات ۰/۰۵ مولار حاوی ۰/۵٪ سرم آلبومین گاوی pH= 7.4به مخلوط اضافه و بر روی ستون سفادکس G-25با استفاده از همین بافر جداسازی گردید (راندمان نشاندار سازی ۹٤٪). پایداری و بررسی ایمینوری اکتیویتی مطابق روش کلرآمین-T انجام شد. توزیع بیولوژیکی مشابه روش کلرآمین-T در فواصل زمانی ۳ و ۲۳ ساعت انجام گردید.

نتایج:

راندمان نشاندار سازی یک میلی گرم آنتی بادی با ۵ میلی کوری ید- ۱۳۱ به روش کلر آمین-T ، ۸٦٪ و در روش یدوژن با ۳۰ میلی کوری ید-۱۳۱ ۹٤٪ بود و آزمایش پایداری نشان داد که آنتی بادی نشاندار شده با روش کلرآمین-T در فسفات بافر سالین در دمای ٤ درجه سانتیگراد تا ۲٤ ساعت بعد از نشاندارسازی تا ۷۰٪ (نمودار ۱) و در روش یدوژن تا ۸۲٪ (نمودار ۲) پایداری خود را حفظ کرده است.

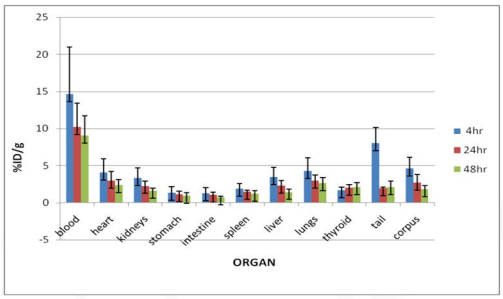


نمودار ۱-پایداری آنتی بادی نشاندار شده با ید-۱۳۱ به روش کلرامین-T در زمانهای ۱و۳و۲٤ ساعت در ٤ درجه سانتیگراد

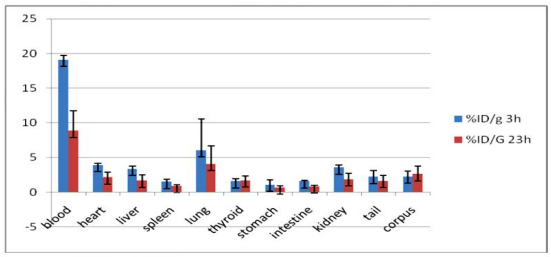


نمودار ۲- پایداری آنتی بادی نشاندار شده با ید-۱۳۱ به روش یدوژن در زمانهای ۱و۳و۲٤ ساعت در ٤ درجه سانتیگراد

درصد بالای آنتی بادی در خون نسبت به سایر اندامها در هر دو روش نشانگر نسبت بالای Target/Nontargetمی باشد(نمودار ۳ و ٤).

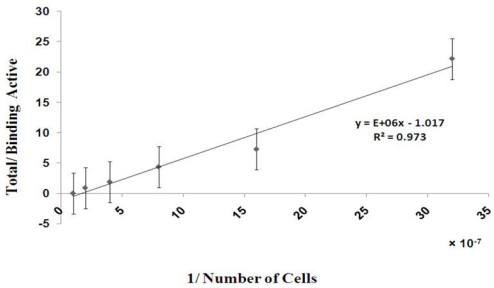


نمودار۳- درصد دوز تزریق شده از آنتی بادی نشاندار شده با ید-۱۳۱ به روش کلرامین-Tدر هر گرم از بافت در موش سوری

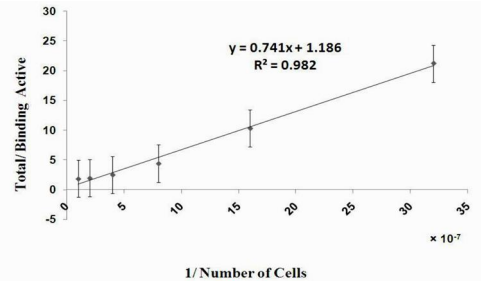


نمودار ٤- درصد دوز تزریق شده از آنتی بادی نشاندار شده با ید-۱۳۱ به روش یدوژن در هر گرم از بافت در موش سوری

ایمیونوری اکتیویتی با روش lindmo انجام شد **درروش کلرآمین-T۳±۵۸٪(نمـودار ۵) و در روش یـدوژن ۵±۶۲٪ (نمودار ٦) بود.**



نمودار۵- بررسی ایمینوری اکتیویتی آنتی بادی نشاندار شده با ید-۱۳۱ به روش کلرامین-T



نمودار٦- بررسی ایمینوری اکتیویتی آنتی بادی نشاندار شده با ید-۱۳۱ به روش یدوژن

نتیجه گیری:

از میان روشهای متعددی که برای نشاندار سازی آنتی بادی با ید وجود دارد، دو روش نشاندار سازی با ستفاده از کلرآمین-T و نشاندار سازی به روش یدوژن مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که روش یدوژن روش ملایم تر و بهتری برای نشاندار سازی با ید-۱۳۱ است و می توان آنتی بادی را با اکتیویته بیشتر نشاندار کرد ضمن اینکه آنتی بادی نشاندار شده پایداری بیشتری نیز دارد.همانطور که در بخش نتایج توضیح داده شده و نمودارهای مربوطه نیز موجود می باشند، هر میلی گرم از آنتی بادی در روش کلرآمین-T تنها ۵ میلی کوری ید-۱۳۱ را تحمل می کند(بازده نشاندارسازی ۸٦٪). در حالیکه نشاندار سازی با در روش یدوژن مشاهده شد که هر میلی گرم از آنتی بادی با ۳۰میلی کوری ید- ۱۳۱ با بازده۹٤٪ نشاندار می شود. بررسی پایداری آنتی بادی نشاندار شده بعد از ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتیگراد در نرمال سالین نشان داد که آنتی بادی نشاندار شده به روش یدوژن از پایداری بیشتری برخوردار است (۸۲٪ روش یدوژن در مقابل ۷۰٪ روش کلرآمین-T).توزیع بیولوژیکی در هر دو روش تقریبا مشابه است. نتیجه اتصال سلولی و بررسی درصد ایمینو ری اکتیویتی در روش کلرآمین-T ۳±۵۸٪ و در روش یدوژن ۵±٦۲٪ می باشد که نشانگر این مطلب است که درصد قابل قبولی از آنتی بادی در مقابل نشاندار سازی مقاومت لازم را نشان داده است و ساختار خود را حفظ کرده است. با توجه به مقایسه ای که در مورد نتایج نشاندارسازی به این دو روش صورت گرفت، نشاندارسازی به روش یدوژن برای اکتیویته های بالاتر ید-۱۳۱ پیشنهاد می شود.

مراجع:

1)Maloney DG, Grillo-López AJ, White CA. IDEC-C2B8 (Rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. Blood 90 (6): 2188–95; 1997.
2)Scott SD .Rituximab: a new therapeutic monoclonal antibody for non-Hodgkin's lymphoma. Cancer Pract**6** (3): 195–7; 1998.
3) Kohler G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256:495-4971975.

4)GómezPuerta JA, Bosch X. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody pathogenesis in small-vessel vasculitis. Am J Pathol. 175(5):1790-1798; 2009.
5)Hunter WM., Greenwood FC. Preparation of Iodone-131 labeled human growth hormone of high activity. Nature 194: 495-496; 1962.

6) Sfakianakis GN, Deland FH. Radioimmunodiagnosis and Radioimmunotherapy, J. Nucl. Med. 23(9): 840-850; 1982.

7) Franker PJ.,Speek JC. Protein and cell membrane iodination with a sparingly soiublechloramide.Biochem.Biophy. Res. Commun. 849-857; 1978.