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

۷ و ۸ اسفند ماه ۱۳۹۲
رشت– دانشگاه گیلان
بیستمین کنفرانس هسته ای ایران
Nuclear society of Iran
20th Iranian Nuclear Conference
26-27 February , 2014
University of Guilan Rasht - Iran

تهیه و تولید رادیوداروی Anti-CD۲۰ نشاندار شده با رادیوایزوتوپهای درمانی جهت کاربرد در سرطان سیستم لنفاوی

فریبا، جوهری دها*؛ سمیرا، رسانه

سازمان انرژی اتمی ایران، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، پژوهشکده کاربرد پرتوها

چکیده:

برای تهیه رادیوداروی Anti-CD۲۰ نشاندار شده با لوتشیم-۱۷۷ ،ابتدا کمپلکس DOTA-Anti-CD۲۰ تهیه و تعداد چلاتور DOTA متصل شده به آنتی بادی با معرف آرسنازو تعیین گردید(۳/۵)، سپس با $^{177}LuCl_3$ نشاندار شد(۹۲٪). پایداری آنتی بادی نشاندارشده در سالین نرمال در دمای ۴ درجه سانتیگراد و در زمانهای ۱ و ۳ و ۸ و ۲۴ و ۴۸ ساعت تعیین گردید(۸۲٪ بعد از ۴۸ ساعت).ایمیونوری اکتیویتی برروی سلولهای راجی و روش Lindmo تعیین شد (۲٪±۸۵). توزیع بیولوژیکی در موش سوری سالم در زمانهای ۴ و ۲۴ و ۴۸ ساعت در خون سایر اندامها بررسی شد،رادیودارو بعد از گذشت ۴۸ ساعت ماندگاری مناسبی در خون داشت (۱۸٪).

کلید واژه ها: DOTA, Anti-CD۲۰ ,ایمیونوری اکتیویتی، سرطان سیستم لنفاوی

مقدمه:

درمان مولکولی هدفمند یک استراتژی کاربردی با موفقیت کلینیکی را در درمان سرطان به وجود آورده است. درمان ایمونولوژیکی با استفاده از مونوکلونال آنتی بادی یک روش درمانی هدفمند به سمت آنتی ژن توموری می باشد[۱]. مزیت اصلی رادیو ایمونو تراپی این است که آنتی بادی قادر به ایجاد اثرات سیتوتوکسیک بر روی سلولهای سرطانی از طریق مکانیسم های سیتوتوکسیسیته سلولی وابسته به آنتی بادی(ADCC)، سیتوتوکسیسیته وابسته به کمپلمان (CDC) و القاء آپوپتوزیس به همراه اثرات تشعشعی می باشد[۲]. هدف اصلی درادیوایمونوتراپی انتقال دوز تشعشعی کشنده به سلولهای توموری می باشد که این ناشی از خصوصیات ایمونولوژیکی و فارماکولوژیکی آنتی بادیها (کلیرانس خونی آنتی بادیها، نفوذ به تومور و افینیته آنتی بادی به سلولهای توموری) و خصوصیات تشعشعی رادیونوکلید (نیمه عمر ، نوع و میزان اشعه ساطع شده) می باشد.

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

به طور کلی ،نیمه عمر یک رادیونوکلید باید با کینتیک in vivo آنتی بادی متناسب باشد[۳]. Rituximab اولین منوکلونال آنتی بادی کایمریک IgG، بر علیه آنتی ژن CD۲۰ لنفوسیت ها بود که در سال ۱۹۹۷ توسط FDA تائید گردید[۴].

لوتشیم – ۱۷۷(^{177}Lu) از بمباران ^{176}Lu بصورت اکسید لوتشیم($^{176}Lu_2O_3$) در راکتور با شار نوترونی $n/s/cm^2$ $1/8\times10^{13}$ به مدت یک هفته بدست میآید. لوتشیم انرژی بتای ۴۹۰ kev و دو اشعه گاما با انرژی های Kev ۲۰۸ وKev ۱۱۳ دارد. اشعه بتای با انرژی متوسط، لوتشیم را یک کاندیدای خوب برای درمان سلولهای سرطانی با حداقل آسیب به بافت سالم کرده است(قدرت نفوذ در بافت mm ۱/۳۵). از طرفی لوتشیم به علت فلز بودن یک اتصال بسیار محکم و پایدار با انواع شلاتورها برقرار میکند که میتوان از آن بخوبی در شرایط درون تنی استفاده کرد. نیمه عمر ۶/۷ روز لوتشیم با نیمه عمر آنتی بادی در بدن همخوانی دارد[۵].

$$^{176}Lu\ (n,\gamma) \rightarrow {}^{177m}Lu \rightarrow {}^{177}Lu$$

روش کار:

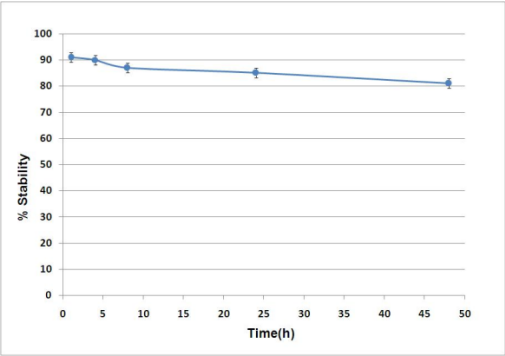
Ritoximab (Mabthera) یک آنتی بادی موشی– انسانی بر علیه CD۲۰ است که با چلاتور مناسب و لوتشیم–۱۷۷ که محصول بمباران لوتشیم–۱۷۶ در راکتور است نشاندار می شود. DOTA-NHS با آنتی بادی حل شده در بافر بورات pH=۸-۸,۵ به نسبت مولی ۱به ۵۰ به مدت یک شب در یخچال واکنش میدهد تا کمپلکس DOTA-Ab تشکیل شود. سپس با استفاده از بافر استات pH=۸-۸,۵ خالص سازی می شود. برای تهیه منحنی استاندارد سنجش غلظت شلاتور DOTA از کمپلکس استاندارد مس استفاده شد. در این روش بافر –Cu(II) Arsenazo(III)یک ترکیب آبی رنگ تولید می کند که با اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۹۰ نانومتر قابل ردیابی است[۶]. کمپلکس DOTA-Ab(pH=۸-۸,۵) با محلول لوتشیم–۱۷۷ در اسید کلریدریک ۱/. نرمال به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نشاندار می شود و به منظور خالص سازی از ستون سفادکس G-۲۵ استفاده

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

شد. آنتی بادی نشاندار شده به نرمال سالین اضافه و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه و در فواصل زمانی ۱و۴و ۸و۲۴و۴۸ ساعت از پایداری با روش کروماتوگرافی بر روی کاغذ واتمن بررسی شد. به منظور بررسی ایمونوری اکتیویتی آنتی بادی از سلولهای Raji استفاده شد. ۱۰۰ میکروکوری از آنتی CD۲۰ نشاندار شده با لوتشیم–۱۷۷ از طریق ورید به موش های نرمال با وزن تقریبی ۲۵–۳۵ گرم تزریق شد و موشها به ۳ گروه ۴ تایی تقسیم و در زمانهای ۱و ۴و ۲۴ ساعت بعد از تزریق کشته شدند و خون واندامهای حیوان جدا شده و میزان اکتیویته در آنها با شمارش در دستگاه شمارنده گاما بدست آمد. درصد دوز دریافت شده در واحد وزن بافت (%ID/g) محاسبه گردید[۶و۷و۸].

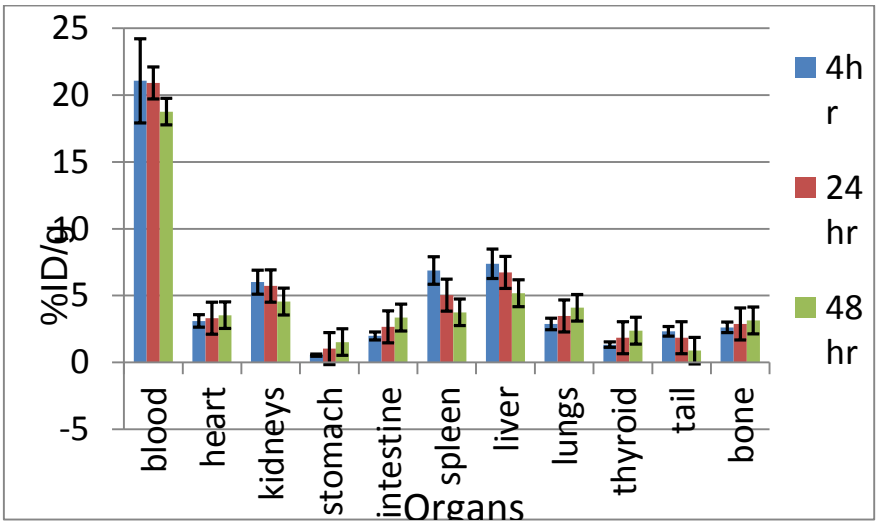
نتایج:

بطور متوسط ۳/۵ مولکول DOTA به هر مولکول آنتی بادی متصل شد. نشاندارسازی با ۶ میلی کوری $^{177}LuCl_3$ به ازای ۳۰۰ میکرو گرم آنتی بادی انجام شد و راندمان نشاندارسازی ۹۲٪ بود.آزمایش پایداری ^{177}Lu-DOTA-Rituximab نشان می دهد پس از گذشت ۴۸ ساعت هنوز ۸۲٪ از رادیواکتیویته به آنتی بادی متصل باقی مانده است.



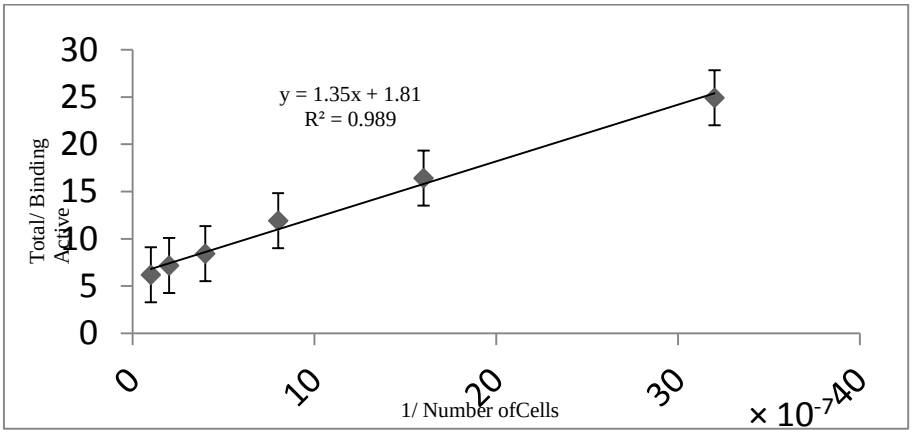
نمودار ۱)پایداری آنتی بادی نشاندار شده با لوتشیم–۱۷۷ در زمانهای ۱و۳و ۸ و۲۴ ۴۸ ساعت در ۴ درجه سانتیگراد

درصد بالای آنتی بادی در جریان خون نسبت به سایر اندامها از ۴ ساعت تا ۴۸ ساعت ، نشانگر نسبت بالای Target/Non target می باشد.



نمودار ۲)درصد دوز تزریق شده از آنتی بادی نشاندار شده با لوتشیم-۱۷۷در هر گرم از بافت در موش سوری

ایمینوری اکتیویتی با روش Lindmo انجام شد(۳±۸۵٪) که بیانگر حفظ ساختار آنتی بادی نشاندار شده می باشد[۹].



نمودار ۳)بررسی ایمونوری اکتیویتی آنتی بادی نشاندار شده با لوتشیم-۱۷۷

نتیجه گیری

بنظر می رسد که Rituximab نشاندار شده با رادیونوکلیدها اثر درمانی بهتری را در بیماران مبتلا به B-Cell NHL نسبت به Rituximab به تنهایی نشان می دهد.مولکولهای چلاتور حلقوی بزرگ (Microcyclic) نظیر DOTA وقتی که به Rituximab متصل می شوند، یک اتصال پایدار را با فلز رادیواکتیو (Radiometal) امکان پذیر می سازند. ایمینوری اکتیویتی آنتی بادی در حد قابل قبولی باقی می ماند.

^{۱۷۷}Lu یک رادیو نوکلید مناسب برای رادیوایمینوتراپی است زیرا این رادیونوکلید علاوه بر داشتن اشعه بتا کم انرژی، از خود اشعه گاما جهت تصویربرداری سینتی گرافیک متصاعد می کند (۱۱۳ KeV ۶,۵٪; ۲۰۸KeV ۱۱٪).با توجه به نسبت target/nontarget ، رادیونوکلیدهایی که اشعه بتا کم انرژی ساطع می کنندنسبت به رادیونوکلیدهایی که بتا با انرژی بالا ساطع می کنند برای تصویر برداری در بیماران مبتلا به NHL مناسبتر هستند. فاکتور مهم دیگری برای آنتی بادی نشاندار شده ، ارزیابی هدف گیری درون تنی (in vivo targeting) از طریق بررسی میزان تمایل اتصال آنتی بادی نشاندار شده به آنتی ژن CD۲۰ می باشد. بررسی ایمینوری اکتیویتی با روشی که توسط Lindmo و همکارانش ابداع شده انجام شد و ملاحظه گردید که ایمینوری اکتیویتی ترکیب ۳±۸۵٪ می باشد که بیانگر حفظ ساختار آنتی بادی نشاندار شده می باشد(۶).

درصد بالای آنتی بادی در جریان خون نسبت به سایر اندامها از ۴ ساعت تا ۴۸ ساعت ، نشانگر نسبت بالای Target/Non target می باشد.

مراجع:

۱) N.Oriuchi,T. Higuchi, H. Hanaoka, K. Endo; Current status of cancer therapy with radiolabel monoclonal antibody. Annals of Nuclear Medicine ٥, ٣٥٥-٣٦٥, ٢٠٠٥.

۲) Hernandez MG, Knox SJ. Radiobiology of radioimmunotherapy: Targeting CD۲۰ B-Cell antigen in non-Hodgkin’s lymphoma. Int.J. Radiation Oncology ٥٩(٥): ١٢٧٤-١٢٨٧, ٢٠٠٤.

۳)Kowalsky RJ, Falen SW. Radiopharmaceutical in nuclear pharmacy and nuclear medicine. ۲۰۰٤ by the American Pharmacists Association,Washingtone DC.

٤) Cheson BD. What is new in lymphoma. CA Cancer J Clin ٥٤: ٢٦٠-٢٧٢, ٢٠٠٤.

٥) Horwitz EP, McAlister DR, Bond AH, Barrans RE, Williamson JM. A process for the separation of ١٧٧Lu from neutron irradiated ١٧٦Yb targets.Appl. Radiat. Isot ٦٣(١):٢٣-٣٦, ٢٠٠٥ .

٦) Eric D.Brady, Hyun-soon Chong, Diana E. Milenic, Martin W. Brechbiel. Development of a spectroscopic assay for bifunctional ligand –protein conjugates based on copper. Nucl. Med. Biolog ٣١,٧٩٥-٨٠٢, ٢٠٠٤.

٧) Alexander T. Yordanov, Marc Hens, Charles Pegram, Darell D. Bigner, Michael R. Zalutsky. Antitenacin antibody ٨١C٦ armed with ١٧٧Lu: invivo comparison of macricyclic and acyclic ligands. Nucl. Med. Biolog ٣٤,١٧٣-١٨٣, ٢٠٠٧.

٨) Oliver H. Lowry, Nira J. Rosebrugh, A. Lewis Farr, Rose J. Randall. Protein measurement with the folin fenol reagent.J. Biolog. Chem ١٩٣, ٢٦٥-٢٦٩, ١٩٥١.

٩) Forrer F., Chen J., Fani M., Powell P., Lohri A., Muller B., Moldenhauer G., Maecke H.R. In vitro characterization of ١٧٧Lu-radiolabelled chimeric anti- CD٢٠ monoclonal antibody and a preliminary dosimetry study.Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging ٣٦:١٤٤٣-١٤٥٢, ٢٠٠٩ .