Archive of SID

کاربرد آنتی‌بادی‌های نشاندار با مواد رادیو ایزوتوپ برای آلفا تراپی سرطان

دکتر داریوش شهبازی گهرویی*

چکیده:

کارآیی بهتر رادیوتراپی نیاز به اختصاصی بودن پرتو تابشی و حساسیت بالای سلولهای هدف دارد. برای این منظور تابش ذرات آلفا به سلولهای سرطان پوست (Melanoma) مورد بررسی قرار گرفت. مونوکلونال آنتی‌بادی 9.2.27 مخصوص سرطان پوست توسط یک منبع رادیوایزوتوپ آلفا دهنده ^{213}Bi (بیسموت) و یک منبع رادیو ایزوتوپ پوزیترون دهنده ^{152}Tb (تربیوم) نشاندار شده است. دو عامل واسط cDTPAa (cyclic anhydride diethylene triamine penta acetic acid) و CHX-A یکی از مشتقات DTPA (cyclohexyl)2-(P-isothiocyanatobenzyl) یا 2-(P-SCN-Bzlcyclohexyl) برای نشاندار کردن توسط هر دوی رادیوایزوتوپ انتخاب گردید. بازده نشاندارکردن برای ^{213}Bi به ترتیب ۹۶٪ و ۹۲٪ با cDTPAa حاصل شد و برای رادیوایزوتوپ ^{152}Tb مقادیر ۹۳٪ برای cDTPAa و ۸۹٪ برای CHX-A مشاهده گردید. بیشترین مقدار نشاندار نشده (Leaching) حاصل از شستشوی ترکیبات پایداری سرم خون به ترتیب ۲۰٪ و ۱۳٪ برای ^{213}Bi، ^{152}Tb به دست آمد. بررسیهای میل ترکیبی سلولها (Cell avidity) تفاوت معنی‌داری بین آنتی‌بادیهای غیر نشاندار و نشاندار را نشان نمی‌دهد. برای هر دو رادیوایزوتوپ بررسی نمودارهای بقاء سلولی مقدار میانگین دوز کشنده (D_0) مساوی ۱۲۰ را مشخص می‌نماید. پایداری بسیار بالای ترکیبات رادیوایزوتوپهای ^{213}Bi، ^{152}Tb همراه با ذرات آلفای گسیلی از آنها نشان می‌دهد که به کارگیری ذرات آلفا به عنوان یک روش جدید برای درمان سرطان پوست (Melanoma) مناسب می‌باشد.

واژه های کلیدی: نشاندارکردن، سرطان پوست، آلفا تراپی، ^{213}Bi، ^{152}Tb

مقدمه:

رادیوتراپی با استفاده از به کارگیری هسته‌های رادیواکتیو برای کنترل متاستاز سرطان از اهمیت زیادی برخوردار است. رادیونوکلایدهای بتا دهنده (^{153}Sm, ^{90}Y, ^{131}I) گرچه در درمان سرطانهای خاصی به کار می‌روند اما از قابلیت موفقیت ضعیفی برخوردار می‌باشند. این رادیو نوکلایدها ذرات بتایی را گسیل می‌نمایند که اندازه آنها از قطر سلولهای سرطانی بیشتر باشد. مقدار انرژی ماکزیمم ذرات بتا محدوده‌ای بین ۰/۵ تا ۲ مگا الکترون ولت (MeV) و اندازه‌ای در حدود ۱۰-۱ mm را دارا می‌باشند که پرتو دهی به سلولهای سالم را نیز به دلیل اندازه بزرگشان انجام می‌دهند. بنابراین رادیوتراپی با ذرات بتا برای از بین بردن سلولهای سرطانی به دلیل انتقال خطی انرژی یا LET (Linear Transfer Energy) و اثر نسبی بیولوژیکی یا RBE (Relative Biological Effectiveness) کم آنها، سودمند نخواهند بود. رادیوتراپی با

* استادیار گروه فیزیک پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

www.SID.ir

Archive of SID

رادیونوکلاید I^{131} نیز به دلیل قابلیت دسترسی آسان به آن و از طرفی نیز روش ساده نشاندارکردن آن در بعضی مواردکاربرد دارد، اما به هر حال قدرت پرتو زایی بسیار بالایی لازم است تا بازده درمانی آن افزایش یابد. بجز سرطان تیروئید رادیوتراپی با ذرات بتا موفقیت‌آمیز نمی‌باشد (۲،۱۲،۱۴).

انتقال خطی انرژی (LET) ذرات آلفا حدود ۱۰۰ برابر و اثر نسبی بیولوژیکی (RBE) آنها نیز به مراتب خیلی بیشتر از ذرات بتا می‌باشد. مقدار انرژی که به سلولهای هدف داده می‌شود نیز بیشتر بوده و بدین طریق ذرات هسته‌ای کمتری برای از بین بردن سلولها لازم است (۱۰،۱۵). به عنوان مثال برای رادیو ایزوتوپهای بتا دهنده‌ای مثل I^{131}، SM^{153} و Tb^{152} مقدار LET برابر با ۰/۳ کیلو الکترون ولت بر میکرون (KeV/μm) و RBE برابر ۱ می‌باشد. در صورتی که مقدار LET برای رادیوایزوتوپهای آلفا دهنده‌هایی مثل Tb^{149}، Bi^{213} و At^{211} مقادیر بزرگتر از ۱۰۰ KeV/μm و مقدار RBE آنها حدود ۳ برآورده شده است.

پیشرفت بیماری در نتیجه متاستاز ملانوما مراحل مختلفی را داراست. معمولاً سلولها در انتقال از مرحله اول پیشرفت بیماری مؤثر هستند. زیرا که سلولهای سرطانی به سوی سیستم لنفاوی و عروقی رفته و یا از گره‌های لنفاوی به درون مویرگها و به سوی ارگانهای دیگر پیشرفت می‌نمایند. رادیونوکلایدهای آلفا دهنده این سلولها را هدف قرار می‌دهند. متیلن آبی At-MTB (Methylene blue) نشاندار با At^{211} در یک نمونه سلولهای ملانومای موش باعث جلوگیری از رشد ۹۵٪ سلولهای سرطانی شده است (۶). با استفاده از At-MTB نتایج نشان داده است که اندازه ضایعات متاستازی در ریه موش کاهش یافته که بیانگر اثر ذرات آلفا در مقابل این سلولها می‌باشد (۹). روش دیگر هدف قرار دادن سلولهای آنتی ژن روی غشاء سلولهای سرطانی است که با مونوکلونال آنتی‌بادی نشاندار با یک هسته رادیواکتیو آلفا دهنده انجام می‌گیرد (۱۳). برای نشاندار کردن مونوکلونالهای آنتی‌بادی بازده و پایداری سیستم آنتی‌بادی - رادیونوکلاید از اهمیت زیادی برخوردار است که معمولاً به آن RIC (Radioimmuno-conjugate) می‌گویند. قابلیت RIC برای پیوند با سلولهای سرطانی و قدرت از بین بردن آنها نیز وابسته به این عامل می‌باشد که برای این منظور عوامل واسط (Chelating agent) متعددی برای نشاندار کردن استفاده می‌شود به طوری که باید به طور دقیق به رادیوایزوتوپ مربوطه پیوند یافته و به راحتی از آن جدا نشود تا این که اندازه‌گیری‌های مقدار اشعه (Dosimetry) لازم به عمل آید (۵-۳،۷).

Horak و همکارانش آنتی‌بادی Ovarian را با Pb^{212} نشاندار کرده و وقتی که اکتیویته آن میکرو کوری ۲۰-۱۰ μci بود توانست کاملاً این سلولها را از بین ببرد (۳). Larsen و همکاران او آنتی بادی ملانوما را با At^{211} نشاندار کرده و با اصابت ۱ تا ۲ ذره آلفا توانستند سلولهای زنده مانده را به ۳۷٪ تقلیل دهند (۸).

امروزه نتایج نیز همخوانی قابل قبولی را در ارتباط با به کارگیری مواد رادیو اکتیو آلفا دهنده نشان می‌دهد (۱). رادیوتراپی با ذرات آلفا قابلیت بالایی برای از بین بردن سلولهای سرطانی در حالت متاستاز را دارا هستند. قابلیت دسترسی به مولد اکتینیوم بیسموت (At-Bi) که از آن Bi^{213} می‌تواند طی چند هفته حاصل شود، کاربرد این رادیونوکلاید آلفا دهنده را برای کارهای تحقیقاتی بیشتر کرده است. هدف این مطالعه قابلیت نشاندارکردن مونوکلونال آنتی‌بادی 9.2.27 با رادیو ایزوتوپ‌های Bi^{213} آلفا دهنده و Tb^{152} پوزیترون دهنده می‌باشد. Tb^{152} به عنوان یک عامل مقایسه برای Tb^{149} که آلفا دهنده می‌باشد نیز برای کاربردهای آتی به کار برده شده است. یعنی این که روشها و نتایج Tb^{152} نیز برای Tb^{149} به کار گرفته خواهد شد. از طرف دیگر Tb^{152} مقایسه قابل قبولی را در ارتباط با مسمومیت سلولی

www.SID.ir

Archive of SID

(Cytotoxicity) بین آلفا و بتا دهنده‌های پر انرژی نشان می‌دهد. انرژی پوزیترون ۲/۸ MeV قابل مقایسه با ^{90}Y (ایتریوم) خواهد بود که انرژی آن ۲/۳ MeV می‌باشد. در این تحقیق ترکیبات نشاندار cDTPAa و CHX-A توسط دو رادیو ایزوتوپ ^{213}Bi و ^{152}Tb تحت شرایط آزمایشگاه روی سلولهای ملانوما و پایداری سرم آنها و همچنین بقاء سلولهای آنها بررسی شده است.

مواد و روشها:

۱- نشاندارکردن مونوکلونال آنتی‌بادی

برای نشاندار کردن مونوکلونال آنتی‌بادی از بهینه کردن روش Izard و همکارانش استفاده شد (۵). عوامل cDTPAa و CHX-A در کلروفرم تهیه و تحت بخار نیتروژن خالص شدند. نسبت این عوامل به آنتی‌بادی به ترتیب 20:1 و 4:1 برای cDTPAa و CHX-A می‌باشد (۱۳). بعد از ۴۵ دقیقه انکوباتور در دمای صفر درجه سانتی گراد توسط ستون PD-10 (Pharmacia Biotech) و با استفاده از استات سدیم ۰/۵ مولار و در pH=۵/۵ به عنوان محلول بافر ترکیب حاصله خالص گردید. سپس دو رادیو ایزوتوپ ^{152}Tb و ^{213}Bi به آنها اضافه شده و بعد از ۲۰ دقیقه انکوباتور مجدد، ترکیب حاصله در pH=۷ و با استفاده از PBS (Phosphate Bovine Serum) به عنوان بافر خالص گردید. کروماتوگرافی با لایه نازک ITLC (Instant Thin Layer Chromatography) توسط کاغذ Gelman (نوارهای ۱×۹ سانتی متری). روی ترکیبات انجام شد. البته در این مرحله محلول استات سدیم ۰/۵ مولار با PH=۵/۵ به عنوان بافر مورد استفاده قرار گرفت.

۲- بررسی پایداری سرم

اکتیویته مشخصی از ترکیب حاصل شده با سرم تازه در ۳۷°C انکوباتور شده و فوراً یک نمونه (نمونه در زمان صفر) توسط ITLC آنالیز شد. طی زمانهای معین ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ساعت نمونه‌های حاوی ^{213}Bi و طی زمانهای ۱، ۲، ۴ و ۸ ساعت نمونه‌های حاوی ^{152}Tb توسط ITLC مورد بررسی قرار گرفت و درصد پایداری سرم به عدم پایداری بر حسب زمان محاسبه شد.

۳- رقابت DTPA

هر دوی ترکیبات حاصله در حضور غلظتهای مختلف DTPA مورد رقابت قرار گرفتند. البته آنتی‌بادی بدون پیوند به رادیوایزوتوپ نیز در این مرحله مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایشی جداگانه سه غلظت مشخص (۱، ۱۰ و ۱۰۰ مولار) از DTPA با آنتی‌بادی غیر نشاندار و نشاندار انکوباتور شد. پس از ۰/۵ و ۱ ساعت از انکوباتور تمامی نمونه‌ها با ITLC آنالیز شده و آنتی‌بادی اختصاصی و غیر اختصاصی ارزیابی گردید.

۴- بررسی میل ترکیبی سلولی (Cell avidity)

تعداد یک میلیون سلول ملانوما (Melanoma) برای ۱۵ دقیقه با آنتی‌بادی غیر نشاندار اختصاصی برای ملانوما (9.2.27) و غیر اختصاصی (WM-53، اختصاصی برای سرطان خون) انکوباتور شد. همین تعداد سلول با آنتی‌بادی نشاندار اختصاصی و غیر اختصاصی نیز مورد انکوباتور قرار گرفت. سلولهای غیر نشاندار نیز به عنوان کنترل مثبت به کار گرفته شدند. پس از انکوباتور تمام سلولها دو بار با محلول PBS/1%FCS شستشو شده و سپس یک آنتی فلورسانس آنتی‌بادی موش به آنها اضافه شد (FITC). پس از مدت ۱۵ دقیقه انکوباتور مجدد سلولها، دو بار با PBS/1%FCS شستشو داده شدند و در این محلول قرار گرفتند و نهایتاً میل ترکیبی سلولی (Cell avidity) آنها به وسیله Flow cytometry مورد بررسی قرار گرفت.

۵- مطالعه بقاء سلولی

آزمایش استاندارد تایمیدین (Thymidine) برای

www.SID.ir

Archive of SID

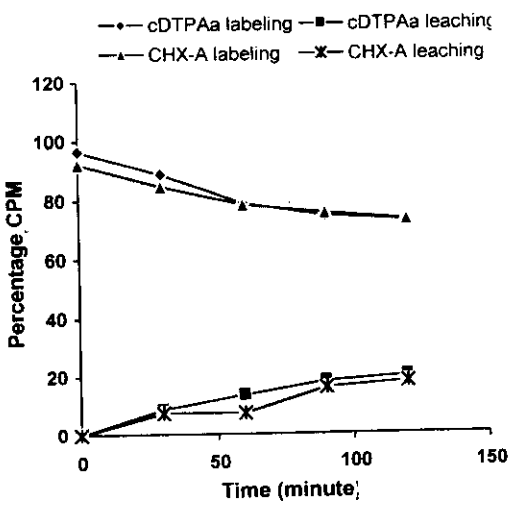
جدول شماره ۱: مطالعه پایداری سرم با استفاده از رادیوایزوتوپ ^{213}Bi

زمان انکوباتور (دقیقه)	cDTPAa		CHX-A	
	درصد نشاندار شده	درصد نشاندار نشده	درصد نشاندار شده	درصد نشاندار نشده
۰	۹۶/۶	۰	۹۲/۴	۰
۳۰	۸۸/۸	۸/۵۵	۸۴/۷	۷/۲۸
۶۰	۷۸/۹	۱۳/۶	۷۸/۴	۷/۲۸
۹۰	۷۴/۶	۱۸/۲	۷۵/۶	۱۶/۰
۱۲۰	۷۲/۹	۲۰/۰	۷۳/۲	۱۷/۹

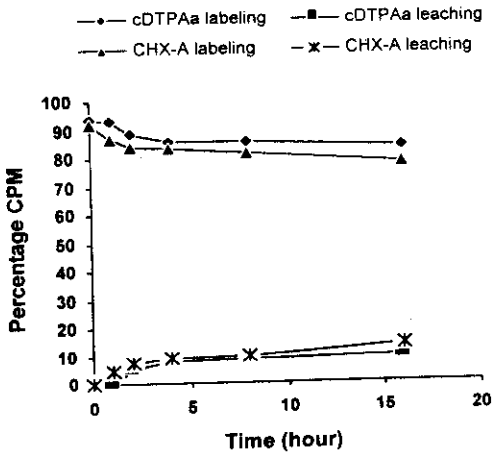
cDTPAa=(cycelic anhydride diethylene triamine penta acetic acid)

CHX-A=(2-(P-isothiocyanatobenzyl)cyclohexyl)

مطالعه بقاء سلولی انجام پذیرفت. ترکیبات غیر اختصاصی از آنتی‌بادی رادیواکتیو شده با "آنتی‌بادی غیر اختصاصی" WM-53 و همچنین با آنتی بادی اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند و به عنوان کنترل برای مقایسه مرگ سلولی به کار گرفته شدند. هر دو رادیوایزوتوپ ^{152}Tb و ^{213}Bi با عامل واسط cDTPAa و آنتی‌بادی (9.2.27) ترکیب شدند و هر سه آنها با سلولهای ملانوما (۵۰۰۰۰Cells/۱۰۰ μL) انکوباتور شد. سپس سلولها توسط PBS/1%FCS شستشو شده و داخل ظروف نمونه ۹۶ تایی قرار داده شدند. سلولها را برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور CO_2 در ۳۷°C قرار داده و تایمیدین به هر کدام از نمونه‌ها اضافه نموده و تحت شرایط مشابه با شرایط فوق دوباره انکوباتور شدند. بعد از جمع آوری سلولها مقدار اکتیویته آنها اندازه‌گیری گردید که این مقدار همان بقاء سلولها را نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۱: رقابت DTPA با ^{213}Bi نشاندار شده با مونوکلونال آنتی بادی 9.2.27 پیوندی با cDTPAa، CHX-A



نمودار شماره ۲: رقابت DTPA با ^{152}Tb نشاندار شده با مونوکلونال آنتی‌بادی 9.2.27 پیوندی با cDTPAa، CHX-A

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۲: مطالعه پایداری سرم با استفاده از رادیوایزوتوپ ^{152}Tb

زمان انکوباتور (ساعت)	cDTPAa		CHX-A	
	درصد نشاندار شده	درصد نشاندار نشده	درصد نشاندار شده	درصد نشاندار نشده
۰	۹۳/۶	۰	۹۲/۰	۰
۱	۹۳/۴	۰	۸۷/۱	۴/۳
۲	۸۸/۵	۵/۱	۸۴	۷/۷
۴	۸۶	۸/۱	۸۳/۶	۹/۱
۸	۸۵/۵	۸/۴	۸۱/۹	۱۰
۱۶	۸۴	۹/۵	۷۸/۵	۱۴

cDTPAa=(cycelic anhydride diethylene triamine penta acetic acid)

CHX-A=(2-(P-isothiocyanatobenzyl)cyclohexyl)

نتایج:

۱ـ نشاندارکردن

نتایج کروماتوگرافی حاصل از نمونه‌ها و رادیو ایزوتوپ آزاد بدون ترکیب آنتی‌بادی در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. ایزوتوپ آزاد در محلول استات سدیم جلوی نوار ITLC حرکت کرده در حالی که آنتی‌بادی نشاندار شده در همان ابتدای نوار باقی می‌ماند. ۹۶٪ و ۹۲٪ از ترکیبات حاصل شده به ترتیب با دو عامل واسط cDTPAa و CHX-A در همان ابتدای نوار باقی مانده در صورتی که ۹۵٪ از ایزوتوپ آزاد به سوی جلوی محلول حرکت می‌کند. برای ^{152}Tb حدود ۹۳٪ و ۸۹٪ از ترکیبات نشاندار شده این وضعیت را نشان می‌دهد. اکتیویته اختصاصی اندازه‌گیری شده حدود (مگا بکرل) ۱/۴ MBq (برابر با ۵۰ μci) در هر گرم آنتی‌بادی می‌باشد.

۲- پایداری سرم

نتایج حاصل برای مطالعه پایداری سرم در جداول شماره ۱ و ۲ آورده شده است هر دو عامل تقریباً پایداری مشابهی را نشان می‌دهند. اما به هر حال ترکیبات با ^{152}Tb پایداری بیشتری را دارند.

۳- رقابت با DTPA

گسترش آنتی بادی غیر اختصاصی نشاندار شده با ^{213}Bi بدون عامل واسط در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است. تا حدود ۳۲٪ از آنتی‌بادی غیر نشاندار نشان می‌دهد که رقابت جایگزینی کمی را با DTPA دارد نتایج

جدول شماره ۳: نتایج حاصل از مطالعه بقای سلولی سلولهای سرطانی پوست

پارامترها	کنترل	مونوکلونال آنتی‌بادی نشاندار نشده	رادیوایزوتوپ غیر اختصاصی ^{213}Bi	رادیوایزوتوپ ^{213}Bi				رادیوایزوتوپ ^{152}Tb			
فعالیت تشعشعی	۰	۰	۶	۰	۱/۹	۳/۸	۷/۶	۰	۵/۵	۱۱	۲۱
بقاء سلولی	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۴۸	۹	۴	۱۰۰	۹۵	۹۴	۹۲

www.SID.ir

Archive of SID

رقابت جایگزینی هر دو عامل رادیو اکتیو ^{213}Bi و ^{152}Tb در نمودارهای شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است.

۴- مطالعه میل ترکیبی سلولی (Cell avidity)

آنتی‌بادی نشاندار شده با هر دو عامل واسط نشان می‌دهد که ۹۵٪ سلولها به آنتی‌بادی غیر نشاندار متصل شده در مقایسه با ۹۴/۵٪ از ^{152}Tb که به آنتی‌بادی پیوندی به cDTPAa متصل شده است. با عامل CHX-A پیوندی به ^{152}Tb، ۹۳٪ سلولها به آنتی‌بادی غیر نشاندار پیوند یافته است. آنتی‌بادی غیر نشاندار و نشاندار شده با ^{213}Bi و عامل cDTPAa و CHX-A به ترتیب ۹۴٪، ۹۲٪ میل ترکیبی را نشان می‌دهد.

۵- بررسی بقاء سلولی

نتایج حاصل از مطالعات بقاء سلولها در جدول شماره ۳ آورده شده است. انحراف معیار ۲٪ تا ۱۲٪ و میانگین انحراف معیار اندازه‌گیریها ۵٪ می‌باشد. میانگین دوز کشنده (دوز بقا ۳۷٪ سلولها) برای ^{213}Bi معادل (۲/۱ μci) ۷۸٪= D_o MBq و برای ^{152}Tb (۲۸۰ μci) یا ۱۰/۴ MBq می‌باشد. هیچگونه مرگ سلولی برای آنتی‌بادی تنها و آنتی‌بادی غیر اختصاصی (WM-53) در این مرحله مشاهده نشد.

بحث:

مشکل اساسی برای نشاندار کردن مونوکلونال آنتی‌بادی‌ها، پایداری سیستم حاصل شده است یعنی ترکیب حاصله باید در ارگانهای دلخواه تجمع یابد و در ارگانهای دیگر جذب نشود (۷). تعداد زیادی عامل واسط با ایزوتوپ‌های مختلف و همچنین پایداری آنها مورد مطالعه قرار گرفته است (۱،۱۱). این مطالعات پایداریهای متفاوتی را در سلولهای مختلف نشان می‌دهند (۷). در این مطالعه پایداری بسیار خوبی برای هر دو عامل CHX-A و cDTPAa نشاندار شده با هر دو رادیوایزوتوپ آلفا دهنده ^{213}Bi و پوزیترون دهنده ^{152}Tb مشاهده شده است. در نشاندار کردن با ^{213}Bi برای cDTPAa، ۹۶٪ و برای CHX-A ۹۲٪ در حالی که با رادیوایزوتوپ ^{152}Tb نتایج به ترتیب ۹۳٪ و ۸۹٪ مشاهده شده است.

بررسیهای پایداری سرم اختلاف معنی‌داری را بین آنها نشان نمی‌دهد. ^{213}Bi ترکیب شده با مونوکلونال آنتی‌بادی و عوامل واسط ذکر شده فقط ۲۰٪ و ۱۸٪ در ۲/۵ ساعت از نیمه عمر آن نشاندار نمی‌شود.

در سی دقیقه اول مقدار نشاندار نشده تقریباً حدود ۵٪ و ۷٪ به ترتیب برای cDTPAa و CHX-A مشاهده شد. برای ^{152}Tb زمان انکوباتور تقریباً یک نیمه عمر در رادیو ایزوتوپ بود و فقط حدود ۱۰٪ برای هر دو عامل واسط مشاهده شد این نتایج پایداری بسیار خوبی را برای هر دو رادیو ایزوتوپ نشان می‌دهد.

هر کدام از ترکیبات با مقدار زیادی از DTPA در رقابت گذاشته شده که این آزمایش به عنوان آزمایش پایداری ترکیب تلقی شد و اطلاعات ارزشمندی را هنگامی که آنتی‌بادی نشاندار غیر اختصاصی و هنگامی که عامل نشاندار کردن نیز به طور غیر اختصاصی به آنتی‌بادی به جای عامل واسط متصل شود حاصل می‌نماید. نتایج حاصل از شستشوی ترکیبات یا نشاندار نشدن آنها (Leaching) به صورت تابعی از زمان در نمودارهای شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. این نمودارها نشان می‌دهند که هر عامل پیوندی غیر اختصاصی در سی دقیقه اول، از ترکیب جدا می‌شود و پایداری بالای هر چهار ترکیب نشانگر این ادعا می‌باشد. به هر حال مقدار اندک ترکیب نشاندار نشده (Leaching) برای CHX-A با هر دو رادیوایزوتوپ مشاهده شده است. این نشان می‌دهد که نشاندار کردن بیشتری برای عامل cDTPAa وجود دارد. عدم پایداری عوامل غیر واسط و پیوند بسیار خوب عوامل نشاندار

www.SID.ir

Archive of SID

کننده ممکن است به عنوان عوامل مزاحم باشند و احتمال دارد از رقابت با DTPA قبل از آزمایشات حذف گردند. در یک تجربه دیگر آنتی‌بادی با عامل نشاندار کننده و بدون حضور عوامل واسط انکوباتور شد واین کار برای محاسبه این که چه مقدار از آنتی‌بادی به طور غیر اختصاصی با رادیوایزوتوپ پیوند می‌یابد مهم می‌باشد. اطلاعات حاصله نشان می‌دهد تا حدود ۳۲٪ از عامل نشاندار کننده می‌توانند به صورت غیر اختصاصی با آنتی‌بادی پیوند یابد. رقابت DTPA تمام عامل نشاندار غیر پیوندی را در همان دقایق اولیه از ترکیب جدا نموده و دلیل آن پیوند ضعیف عامل غیر اختصاصی می‌باشد. این آزمایش هم پایداری ترکیب را نشان می‌دهد و هم اطلاعاتی را در باره موفقیت در رقابت با آنتی‌بادی غیر اختصاصی را بیان می‌دارد.

بررسی میل ترکیبی (Cell avidity) نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین نشاندار کردن سلولها توسط آنتی‌بادیهای نشاندار و غیر نشاندار وجود ندارد. این بدان معناست که کل سیستم حتی از اضافه شدن یک عامل واسط و یا یک رادیوایزوتوپ نشاندار تغییر نخواهد کرد و دلیل آن اندازه مولکولی کوچک عامل واسط و نشاندار در مقایسه با مولکولهای بزرگ آنتی‌بادی است. مخصوصاً باید متذکر شد که هیچگونه تفاوتی میان آنتی بادیهای نشاندار و غیر نشاندار با هر دو عامل واسط توسط ^{152}Tb مشاهده نشده است. اما برای ^{213}Bi یک اختلاف کوچک ۲٪ برای هر دو عامل واسط مشاهده شد.

بررسیهای بقاء سلولها تفاوت بزرگی را بین ^{152}Tb، ^{213}Bi نشان می‌دهد. میانگین دوز لازم برای زنده ماندن ۳۷٪ از سلولها (D_0) برابر با ۲/۱ μci برای ^{213}Bi بود، در حالی که این مقدار برای ^{152}Tb معادل ۲۸۰ μci می‌باشد و بیانگر اکتیویته مقدار اشعه گاما در زمان انکوباتور می‌باشد. چنانچه ملاحظه می‌شود میانگین دوز لازم برای ^{213}Bi تقریباً ۱۳۶ برابر کمتر از ^{152}Tb بر آورد شده است.

برای بررسی مسمومیت سلولی ^{213}Bi در مقایسه با ^{152}Tb می‌بایست از نسبت شاخه‌ای (branching=B) اشعه گاما استفاده کرد. این مقادیر برای ^{152}Tb عبارت‌اند از: $B(\beta)=B(\gamma)=0/13$ در صورتی که برای ^{213}Bi مقادیر $B(\gamma)=0/34$، $B(\beta)=1/02$، $B(\alpha)=1$ حاصل شده است.

مقادیر فوق نسبتهای شاخه‌ای نسبی اکتیویته AR (Activity Ratios) برای نقاط مشابه نهایی می‌باشند. به بیان دیگر مقادیر $AR(\alpha)=121$، $AR(\beta)=119$ و $AR(\gamma)=356$ برآورد شده است. از آنجایی که در زمان گسیل ذرات آلفا یک پرتو بتا نیز گسیل می‌شود باید این مقدار از مقدار $AR(\alpha)$ کم شود {$AR(\alpha)=120$}. در حالی که تفاوت در انرژیهای اشعه γ و β، اثر بسزایی را روی نسبتهای اکتیویته دارد، اما فقط مقادیر بسیار اندکی از آنها می‌تواند در مقایسه با انرژی کوچک ذرات آلفایی باشد که LET آنها بسیار بالاست. نتایج فوق همخوانی قابل قبولی را با این واقعیت دارند که یک کسر بزرگی از انرژی کل ذرات آلفا به سوی سلولهای هدف اصابت خواهد کرد و فقط چند برخورد هسته‌ای برای از بین بردن سلولهای سرطانی لازم است. این نکته بسیار جالبی است که با اصابت ایزوتوپهای آلفا دهنده بتوان سلولهای سرطانی را مورد هدف قرار داده و آنها را از بین برد.

نتیجه‌گیری:

در این مطالعه دو ترکیب نشاندار شده با استفاده از رادیوایزوتوپهای ^{213}Bi و ^{152}Tb تهیه شده است. ^{152}Tb برای اولین بار تهیه گردیده و برای مقایسه کاربردی ^{149}Tb مورد بررسی قرار گرفت. هر دو عامل واسط به صورت عوامل پایدار در ترکیب می‌باشند.

عامل نشاندار (ترکیب نشاندار با رادیو ایزوتوپ ^{213}Bi) به خوبی سلولهای سرطانی ملانوما را از بین می‌برد و مسمومیت پرتوی سلولی آن برای سلولهای

www.SID.ir

Archive of SID

ملانوما حدود ۱۲۰ برابر بیشتر از ^{150}Tb می‌باشد. وقتی که در ترکیب نشاندار ^{213}Bi از آنتی‌بادی غیر اختصاصی (WM-53) استفاده شود، هیچگونه تفاوتی در مسمومیت پرتوی سلولی آن نسبت به کنترل مشاهده نشده است. نتایج حاصل از ^{152}Tb نشان می‌دهد که ^{150}Tb به عنوان یک عامل پایدار و آلفا دهنده ممکن است اثر سلول‌کشی خوبی را مشابه با ^{213}Bi دارا باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نیاز به بررسیهای بیشتری برای رادیوتراپی و هم چنین از بین بردن سلولهای سرطانی با استفاده از به کارگیری ذرات آلفا را دارا می‌باشد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از پروفسور Barry Allen رئیس مرکز تحقیقات سرطان بیمارستان St.George سیدنی، که در زمینه اجرای این تحقیق همکاری نمودند و همچنین معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد قدردانی می‌شود.

References:

1- Bumol TF.; Reisfeld RA. Unique glaycoprotein- proteoglycan complex defined by monoclonal antibody on human melanoma cells. Proc Natl Acad Scu USA, 79: 1245-9, 1982.

2- Epenetos AA.; Munro AJ.; Stewart S.; Rampling R.; et al. Antibody guided irradiation of advanced ovarian cancer with intraperitoneally administered radiolabeled monoclonal antibodies. J Clin Oncol, 12: 1890-9, 1987.

3- Horak E.; Hartmann F.; Garmestani K. Radionimmunotherapy targeting the HER2/neu oncoprotein expressed on an ovarian tumor using the alpha emitting redionuclide conjugated monoclonal antibody 212-pb-Dota-AEI. J Nucl Med, 38: 1944-50, 1997.

4- Hnatowich DJ.; Virzi F.; Dohetry PW. DTPA coupled antibodies labeled with Ytterium-90. J Nucl Med, 26: 503-8, 1985.

5- Izard M. An improved method for labeling monoclonal antibodies with Sm-153. Bioconjug Chem, 3: 346-50, 1992.

6- Kassis AI. The *in vitro* radiobiology of Astatine-211 decay. Radiat Res, 105: 27-36, 1986.

7- Kobayashi H.; Wu C.; Yoo TM. Evaluation of the *in vivo* biodistribution of the Yttrium-labeled isomers of CHX-DTPA-conjugated monoclonal antibodies. J Nucl Med, 36: 829-36, 1998.

8- Larsen RH.; Akabani G.; Welsh P.; Zalutski MR. The cytotoxic and microdosimetry of Astatine-211 labeled chimeric monoclonal antibodies in human glioma and melanoma cells *in vitro*. Radiat Res, 149: 152-7, 1998.

9- Link EV.; Michalwoski AS.; Rosch F. At-211-Methylene blue in targeted radiatherapy of disseminated melanoma. Pigment Cell Res, 7: 352-8, 1994.

10- Lloyd EL.; Gemmell MA.; Henning CB.; Gemmell DS.; et al. Cell survival following multiple track alpha particle irradiation. J Int Radiat Biol, 35: 123-32, 1979.

11- Motgan AC.; Galloway DR.; Reisfeld RA. Production and charactrerization of monoclona antibody to a melanoma specific glycoprotein. Hybridoma, 1: 27-33, 1982.

12- Papanastassiou V.; Pizer BL.; Kemshead JT. Application of the dosimetric model described by Humm target I-131 monoclonal antibodies to leukemia cells in the celrbrospinbal fluid. Int J Radiat Biol, 63: 251-4, 1993.

13- Shahbazi - Gahrouei D.; Williams M.; Rizvi SM.; Allen BJ. *In vivo* studies of Gd-DTPA-monoclonal antibody and Gd-porphyrins: potential MR imaging contrast agents for melanoma. J Magn Reson Imaging, 14(2): 169-74, 2001.

14- Stewart JS.; Hird V.; Snook D. Interperitoneal Yttrium-90-labeled monoclonal antibody in ovarian cancer. J Clin Oncol, 8: 1941-50, 1990.

15- Vaughan A.; Bateman WJ.; Brown G.; Cowan J. The specific inhibition of cellular clonogenic proloferation using At-211 labeled lectins and antibodies. Int J Nucl Med Biol, 9: 167-71, 1982.

www.SID.ir