

تولید و کنترل کیفی آنتی بادی مونوکلونال نشان دار با تکنسیم- 99m علیه سلول های سرطانی کولون

نکیسا ضرابی اهرابی* (M.Sc.) پیام بهرادکیا** (M.Sc.) محمد شفیعى*** (M.Sc.)
فریبا جوهری دهها**** (Ph.D.) رضا نجفی**** (Ph.D.) شیده منتصر کوهساری**** (Ph.D.)
محمدحسین بابائی***** (Ph.D.)⁺

چکیده

سابقه و هدف: آنتی بادی های مونوکلونال (Monoclonal) با توجه به اتصال اختصاصی به آنتی ژن، امروزه به عنوان ابزار تحقیقاتی و عوامل تشخیصی بهسازی می شوند. در این تحقیق آنتی بادی های مونوکلونال بر علیه سلول های سرطان روده تهیه شده و نشان دارسازی آن ها با رادیوایزوتوپ تکنسیم-99m صورت گرفت.

مواد و روش ها: این پژوهش در سه مرحله انجام شد که شامل تهیه سلول های هیبریدوما علیه سلول های سرطانی روده (HT29)، تولید آنتی بادی مونوکلونال با رشد هیبریدوما در محیط کشت و به دست آوردن خصوصیات آن و نشان دارسازی آن با تکنسیم-99m و انجام آزمایش های کنترل کیفی می باشد.

یافته ها: در این پژوهش سلول هیبریدوما₂ جهت تولید آنتی بادی مونوکلونال به دست آمد که ایزوتایپ آنتی بادی IgG1 و ثابت پیوستگی (Affinity) آن $7/2 \times 10^9 M^{-1}$ تعیین شد. این آنتی بادی قادر به شناسایی آنتی ژن رویانی سرطان (CEA) بود. بازده نشان دارسازی آنتی بادی مونوکلونال با در نظر گرفتن نتایج حاصل از آزمایش های کنترل کیفی، بیش از ۹۰ درصد تعیین شد.

استنتاج: آنتی ژن رویانی سرطان (CEA) پروتئینی غشایی با گلیکوزیلاسیون زیاد است. از کاربردهای بالینی رایج آنتی بادی ها علیه CEA، می توان به غربالگری سرطان در میان افراد جمعیت، تشخیص سرطان های بدخیم دستگاه گوارش، تکنیک های آسیب شناسی، تشخیص جایگاه تومور و درمان سرطان اشاره نمود. در این تحقیق یک آنتی بادی مونوکلونال نشان دار شده جدید تهیه شده است که می تواند در آینده به عنوان یک انتخاب مناسب برای ثبت تصاویر دو بعدی با پرتو-ایمنی (Radio Immunoscintigraphy) مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: آنتی بادی مونوکلونال، رادیودارو، تکنسیم، 99m، رادیوایمونوسنتی گرافی، سرطان کولون

** کارشناسی ارشد بیولوژی سلولی ملکولی، بخش رادیوایزوتوپ سازمان انرژی اتمی ایران
**** متخصص داروسازی هسته ای، بخش رادیوایزوتوپ سازمان انرژی اتمی ایران

* کارشناسی ارشد بیولوژی سلولی ملکولی، علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران
*** کارشناسی ارشد شیمی آلی، بخش رادیوایزوتوپ سازمان انرژی اتمی ایران
**** دکترای بیولوژی سلولی ملکولی، علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران
***** متخصص داروسازی هسته ای، بخش رادیوایزوتوپ سازمان انرژی اتمی ایران

⁺ ✉ مولف مسئول: تهران-کارگرمشالی، سازمان انرژی اتمی ایران

E_mail : sbabaei@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۶/۲/۱۲

تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۵/۹/۱۱

تاریخ دریافت: ۸۵/۶/۱۳

مقدمه

که آنتی بادی مونوکلونال نشان‌دار شده با یک پرتو هسته‌ای مناسب، به صورت وریدی به بیمار تزریق می‌گردد، آنگاه آنتی بادی نشان‌دار شده با واکنش مصنوعی با آنتی ژن‌های هدف، ترکیبی را تشکیل می‌دهد و سپس اثرات تشخیصی و درمانی آن بروز می‌کند. اگرچه این روش در ابتدا برای تشخیص بافت‌های بدخیم ارائه شده بود، امروزه کاربردهای دیگری مثل تشخیص محل سکنه قلبی، ترومبوز، التهاب و پلاک‌های تصلب شرایین نیز پیدا نموده است.

سیستم ایمنی دارای توانایی شناخت تومورها به عنوان یک جسم بیگانه است و دارای اثراتی جهت جلوگیری از توسعه و گسترش آن‌ها است (۵). آنتی ژن‌هایی که تحت عنوان آنتی ژن‌های همراه تومور یا TAA (Tumor-Associated antigens) نامیده می‌شوند دارای طبقات متعددی می‌باشند و بسیاری از انواع مختلف آن‌ها ممکن است در یک تومور بروز کنند. از مهم‌ترین شاخص‌های آنتی ژنی سرطانی می‌توان به آنتی ژن رویانی سرطان (Carcinoembryonic antigen)، اشاره نمود.

CEA نوعی گلیکوپروتئین غشایی با وزن ملکولی ۱۸۰۰۰۰ دالتون می‌باشد که در سرطان‌های روده، بزرگ- و رکتوم، معده و لوزالمعده، ۵۰ درصد انواع سرطان‌های پستان و ۷۰ درصد سرطان‌های ریه نوع NSCL وجود دارد (۶).

پس از معرفی یک آنتی بادی مونوکلونال جدید، اولین قدم برای معرفی آن به عنوان یک رادیو دارو، نشان‌دارسازی با یک پرتو هسته‌ای مناسب و انجام آزمایش‌های کنترل کیفی بر روی ترکیب نشان‌دار حاصله می‌باشد. با توجه به شیوع سرطان‌های دستگاه گوارش در کشور و همچنین بالا بودن قیمت این گونه رادیو داروها در بازارهای بین‌المللی، در این مطالعه بر علیه سلول‌های سرطانی روده، آنتی بادی مونوکلونال تهیه شد و با تکنسیم-

آنتی بادی‌ها توسط دسته‌ای از لنفوسیت‌ها به نام سلول‌های B یا پلاسما سل‌ها تولید می‌شوند و هر سلول B پستانداران حاوی ظرفیت تولید یک آنتی بادی است که یک آنتی ژن معین (epitope) را شناسایی می‌کند (۱). فن آوری هیبریدومای موش که توسط کوهرلر و میل اشتین (Milstein و Kohler) توصیف شد، مرحله مهمی در رشد فن آوری آنتی بادی بود و راه را برای ظهور آنتی بادی‌های مونوکلونال تشخیصی و درمانی باز کرد (۲). در دهه ۸۰ پژوهش‌ها به سمت ارزیابی استفاده درون تنی آنتی بادی‌های مونوکلونال موشی در انسان‌ها هدایت شدند به گونه‌ای که هدف، هم تصویربرداری و هم درمان بود (۳).

هدف گیری عبارت است از هدایت آنتی بادی‌های مونوکلونال به سمت سلول‌های خاص که در این راستا آنتی بادی‌های مونوکلونال را می‌توان طوری درست کرد که نیمه اثرگذار باشند و به عنوان یک حامل به خوبی ایفاء نقش کنند، یعنی آنزیم‌ها، توکسین‌ها، رادیونوکلیدها، سایتوکاین‌ها یا حتی مولکول‌های DNA را به سوی سلول‌های هدف ببرند؛ یعنی جایی که نیمه اتصال یافته بتواند اثر خود را اعمال کند (۱).

آنتی بادی‌های مونوکلونال نشان‌دار با مواد رادیواکتیو، نسل جدیدی از رادیو داروها هستند که برای تشخیص و درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. تشخیص و یا درمان بر اساس افزایش فعالیت بعد از تزریق ترکیب پرتوهای فعالی (Radioactive complex) در محل انجام می‌شود که تحت عنوان ثبت تصاویر دو بعدی با پرتو- ایمنی یا رادیوایمونوسیتی گرافی Radioimmunosintigraphy (RIS) و یا پرتو- ایمنی- درمانی (Radioimmunotherapy (RIT نام گذاری شده‌اند. اساس این روش بر واکنش مصنوعی بین آنتی بادی نشان‌دار و آنتی ژن موجود در بافت هدف می‌باشد، بدین صورت

می‌شد، به مدت ۵ ساعت در درجه حرارت اتاق هم زده شد. سپس سانتریفوژ شده (10000g, 5 min) تا رسوبات گرفته شوند. محلول حاصل در مقابل یک محلول 10mM سترات بافر با pH=5.2 در ۴ درجه سانتیگراد دیالیز شد (۵ بار تعویض محلول بافر در مدت ۲۴ ساعت). محلول فوق از یک صافی $0.2 \mu\text{m}$ عبور داده شد و غلظت آن به روش لوری اندازه‌گیری شد. محلول حاصله با بافر 100mM NaCl, 20mM Citrate, 1% Mannitol, pH5.2 تا غلظت 1 mg/ml رقیق شد و پس از استریل کردن با صافی استات سلولز $0.22 \mu\text{m}$ در حجم‌های یک میلی‌لیتری تقسیم شده و پس از انجماد سریع، تحت شرایط مکش شدید، آب‌گیری شد (Lyophilization).

- نشان دارسازی ترکیب HYNIC-IgG

این مرحله شامل دو قسمت است که ابتدا ترکیبی بین تکنسیم و تریسین (کولیگانند) به وجود می‌آید و سپس این ترکیب به مولکول HYNIC-IgG می‌پیوندد (Chelate).

الف- تهیه ترکیب تکنسیم-تریسین

۸۰ میکرو لیتر از محلول کلرورقلع (غلظت 50 mg/ml در محلول 0.1N HCl که به مدت ۲ ساعت با گاز نیتروژن بدون گاز شده است) به ۵۰ میلی‌لیتر از محلول 20mM تریسین pH=7.1 (که به مدت یک ساعت با گاز نیتروژن بدون گاز شده است) اضافه شد. محلول فوق از یک صافی نیترات سلولز $0.22 \mu\text{m}$ عبور داده شده و سپس در حجم‌های ۱۰۰۰ μl تقسیم شد. به هر محلول کلرورقلع-تریسین اکتیویته‌ای معادل ۵۰-۱۰ mCi/1ml اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق پرورانده شد (Incubation) تا ترکیب $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{tricine})_2$ حاصل شود.

99m نشان‌دار گردید و آزمایش‌های کنترل کیفی بر روی ترکیب نشان‌دار صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

رده‌های سلولی تومور نخاع موش SP2/0 (mouse myeloma) و سرطان روده بزرگ انسان HT29 (human colon adenocarcinoma) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران به دست آمدند. سفادکس - G25 از شرکت Pharmacia Biotech و Protein G immobilized on Sepharose CL-4B خریداری شدند.

- تهیه سلول‌های هیبریدوما

با استفاده از روش استاندارد (۶)، از طریق مصون‌سازی موش‌های Balb/C با سلول‌های HT29، سلول هیبریدومای موشی تولید کننده آنتی‌بادی مونوکلونال تهیه شدند. با رشد سلول‌های به دست آمده، آنتی‌بادی مونوکلونال به دست آمد و سپس با روش تغلیظ سازی با سولفات آمونیم اشباع و رنگ‌نگاری (Chromatography) جذبی پروتئین - A خالص شد. سپس گروه و زیر گروه، ثابت جذب (افینیتی) و آنتی ژن هدف آن (آزمایش ایمونوبلاستینگ) شناسایی شد.

- نشان‌دارسازی آنتی‌بادی مونوکلونال با $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (۷)

- اتصال سوکسینیمیدل ۶- هیدرازینوپیریدین-۳- کربوکسیلات (SHNH) به ملکول آنتی‌بادی

محلولی از آنتی‌بادی در فسفات بافر ۰/۱ مولار با pH = 7.8 با غلظت 5 mg/ml تهیه شد. به آن ۲۰ برابر نسبت مولی از محلول تازه تهیه شده SHNH در دی متیل فرمامید (30 mM in DMF) به صورت قطره قطره اضافه شد. مخلوط فوق در حالی که از نور محافظت

ب- تهیه ترکیب $^{99m}\text{Tc-HYNIC-IgG}$

ترکیب $^{99m}\text{Tc}(\text{tricine})_2$ حاصله در مرحله قبل به ترکیب HYNIC-IgG اضافه می‌شود و در دمای اتاق پرورانده می‌گردد تا ترکیب نهایی $^{99m}\text{Tc-HYNIC-IgG}$ حاصل شود. ترکیب حاصله تحت آزمایش‌های کنترل کیفی شامل تعیین بازده نشان‌دارسازی، پایداری در محیط، پایداری در سرم، تعیین واکنش ایمنی و توزیع حیاتی در موش‌های طبیعی قرار گرفت.

- آزمایشات کنترل کیفی آنتی بادی مونوکلونال نشان‌دار شده

- تعیین بازده نشان‌دارسازی

بازده نشان‌دارسازی در زمان‌های مختلف بین ۱۲۰-۱۵ دقیقه انجام شد. برای این منظور از روش رنگ‌نگاری با لایه نازک TLC¹ استفاده شد که فاز متحرک نرمال سالین و فاز ثابت کاغذ واتمن شماره ۳ با ابعاد ۱۴ × ۱ cm انتخاب شد. به فاصله ۱/۵ cm از ابتدای آن نمونه‌گذاری (۴ μl) انجام شد و پس از خشک شدن نمونه، ورقه برای جداسازی در مخزن محتوی نرمال سالین قرار داده شد. بعد از طی حدود ۱۰ cm توسط فاز متحرک، به ورقه فرصت داده شد تا خشک شود. ورقه به سه قطعه بریده شد و مقدار فعالیت در هر قطعه توسط دستگاه شمارنده‌ی گاما شمارش گردید، تا بازده نشان‌دارسازی به دست آید. در این سیستم آنتی‌بادی نشان‌دار شده دارای $R_f = 0$ و پرتکتات آزاد $R_f = 1$ است.

- پایداری ترکیب نشان‌دار شده در درجه حرارت اتاق

در زمان‌های مختلف (۱، ۲، ۴، ۱۲ و ۲۴ ساعت) پس از نشان‌دارسازی، پایداری ترکیب نشان‌دار در درجه حرارت اتاق با روش TLC اندازه‌گیری شد.

- بررسی پایداری در سرم

۱-۱۰ μg از آنتی‌بادی نشان‌دار شده معادل ۱۰۰-۱۰ μCi به یک میلی‌لیتر سرم انسانی تازه تهیه شده اضافه و در 37°C همراه با تکان دادن ملایم به مدت ۲۴ ساعت پرورانده شد. در زمان‌های مختلف (۱، ۲، ۴، ۱۲ و ۲۴ ساعت) میزان پایداری توسط TLC محاسبه گردید.

- بررسی توزیع حیاتی ترکیب نشان‌دار شده در موش‌های طبیعی

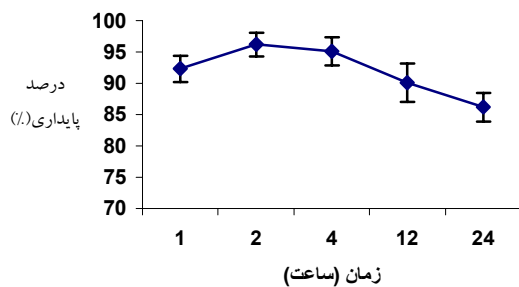
برای اندازه‌گیری میزان تجمع آنتی‌بادی نشان‌دار شده در بافت‌های مختلف در موش، مقدار ۱۰۰ μl آنتی‌بادی نشان‌دار شده که معادل ۳۰-۱۰ μg پروتئین و ۲ MBq اکتیویته است از طریق ورید دمی به دو گروه سه تایی موش تزریق شد. ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق، موش‌ها در اتر کشته شده و اعضاء مورد نظر شامل خون، کبد، طحال، کلیه، معده، روده، قلب، عضله و استخوان جدا شده، بعد از توزین، مقدار فعالیت موجود در آن‌ها توسط شمارنده گاما شمارش می‌شود. آنگاه متوسط درصد مقدار جذب شده در هر گرم بافت (%) (ID/g Tissue) همراه با انحراف استاندارد محاسبه می‌گردد.

یافته‌ها

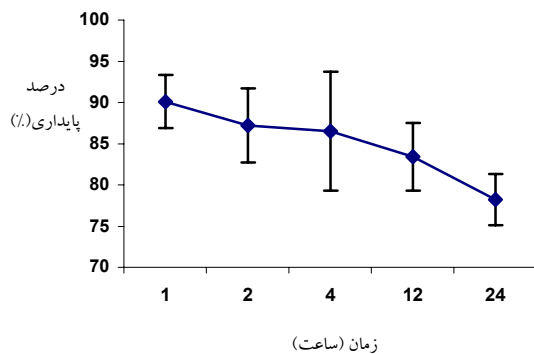
- آنتی بادی مونوکلونال

سلول‌های هیبریدومای D2 به دست آمد که آنتی بادی مونوکلونال از نوع IgG1 با ثابت پیوستگی $7.2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ ترشح می‌کنند. این آنتی بادی قادر به شناسایی آنتی‌ژن رویانی سرطان Carcinoembryonic (antigen) است.

1. Thin Layer Chromatography



شکل شماره ۲: نمودار پایداری کمپلکس $^{99m}\text{Tc-HYNIC-mAb-D}_2$ در زمان های مختلف در بافر فسفات (n=5).



شکل شماره ۳: نمودار پایداری ترکیب $^{99m}\text{Tc-HYNIC-mAb-D}_2$ در زمان های مختلف در سرم (n=5).

- توزیع حیاتی ترکیب $^{99m}\text{Tc-HYNIC-mAb}$ در موش های نرمال

نتایج حاصل از توزیع حیاتی ترکیب $^{99m}\text{Tc-HYNIC-mAb}$ در موش های بلب سی سالم در ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق وریدی برحسب متوسط درصد مقدار تزریق شده در هر گرم از بافت در شکل شماره ۴ نشان داده شده است. این نتایج نشان می دهد که هیچ گونه تجمع غیرطبیعی فرآورده تولیدی در بافت های حیاتی موش دیده نمی شود و همچنین ترکیب $^{99m}\text{Tc-HYNIC-mAb}$ در محیط درون تنی کاملاً پایدار است.

- بازده نشان دارسازی و اندازه گیری واکنش ایمنی

ترکیب $^{99m}\text{Tc-HYNIC-Ab}$

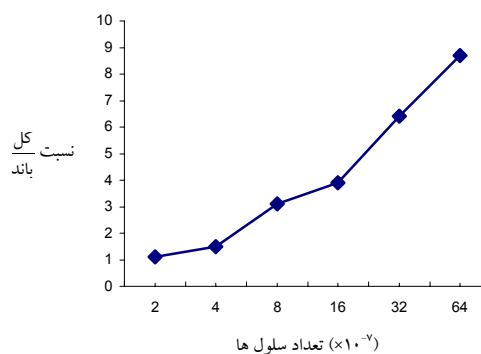
بازده نشان دارسازی در این روش پس از گذشت ۶۰ دقیقه به حداکثر خود (بیش از ۹۰ درصد) می رسد. واکنش ایمنی آنتی بادی نشان دار شده برابر ۸۱ درصد است که گویای این مطلب است که ساختمان پروتئینی آنتی بادی در این روش و با به کارگیری HYNIC حفظ گردیده و پایدار می باشد (شکل شماره ۱).

- پایداری ترکیب $^{99m}\text{Tc-HYNIC-Ab}$ در دمای اتاق

ترکیب نشان دار شده به روش غیر مستقیم تا ۲۴ ساعت پایدار بوده و این پایداری به $3/1 \pm 85/2$ درصد می رسد (شکل شماره ۲).

- پایداری ترکیب $^{99m}\text{Tc-HYNIC-mAb}$ در سرم

ترکیب حاصل از روش غیر مستقیم در سرم پایدار بوده و این پایداری پس از ۲۴ ساعت به $2/1 \pm 78/2$ درصد می رسد (شکل شماره ۳).

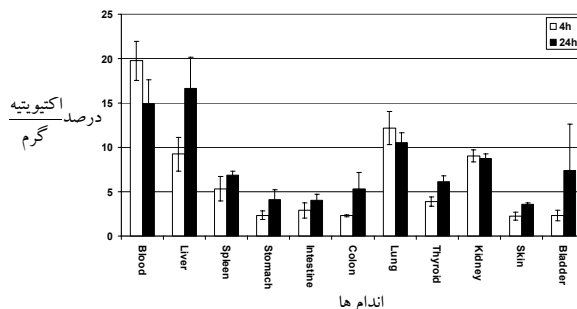


شکل شماره ۱: نمودار Lineweaver-Burk برای تعیین واکنش ایمنی ترکیب $^{99m}\text{Tc-HYNIC-mAb-D}_2$ محل تقاطع محور Y با خط برابر $1/32$ است، لذا واکنش ایمنی برابر ۸۱٪ است (n=3).

یک روش نشان‌دارسازی مناسب نه تنها باید ترکیب پایدار با بازده نشان‌دارسازی بالا ارائه نماید، بلکه باید رفتار دارویی (Pharmacokinetic) آنتی‌بادی نیز بدون تغییر بماند. بدین منظور نشان‌دارسازی آنتی‌بادی مونوکلونال با یک رادیوایزوتوپ مناسب و سپس کنترل کیفی فرآورده تولیدی، اولین قدم در استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال در مطالعات رادیوایمونوسنتی گرافی می‌باشد (۹) که در پژوهش حاضر نیز انجام شد.

با توجه به مطالب گفته شده در بالا، تاکنون روش‌های مختلفی برای نشان‌دارسازی آنتی‌بادی‌ها ارائه شده است. همان‌گونه که در قبل گفته شد با توجه به ساختمان هر آنتی‌بادی مونوکلونال، نشان‌دارسازی آن بفرود مخصوص به خود می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده این تکنیک نشان‌دارسازی برای این آنتی‌بادی مونوکلونال بسیار مطلوب می‌باشد؛ به طوری که خاصیت مصنوعیتی آنتی‌بادی در طی پروسه نشان‌دارسازی حفظ شده است (شکل شماره ۱) و دارای پایداری مطلوب (شکل شماره ۲ و ۳) می‌باشد. با این روش نشان‌دارسازی می‌توان از این آنتی‌بادی یک اسباب (Kit) سرد آماده قابل نشان‌دارشدن با تکنسیم- 99m تهیه نمود و در صورت مهیا بودن سایر شرایط در اختیار مراکز پزشکی هسته‌ای قرار داد.

حفظ خاصیت مصنوعیتی آنتی‌بادی نشان‌دار شده از آن جهت مهم است که این ترکیب بتواند در محیط بدن آنتی‌ژن‌های خود را شناسایی کرده و به آنها متصل گردد. در غیر این صورت اهداف تشخیصی و درمانی مورد نظر حاصل نمی‌شوند. با توجه به مقایسه مطالعات انجام شده بین درصد حفظ خاصیت مصنوعیتی آنتی‌بادی نشان‌دار و میزان تجمع در بافت هدف، چنین نتیجه‌گیری شده است که حداقل باید ۷۰ درصد از آنتی‌بادی‌های نشان‌دار شده خاصیت مصنوعیتی خود را حفظ کرده باشد تا نتایج بالینی مطلوب به دست آید.



شکل شماره ۴: توزیع حیاتی درصد ^{99m}Tc -HYNIC-mAb-D₂ در موش‌های طبیعی در زمان‌های ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق وریدی (% ID/g \pm SD).

بحث

در این تحقیق یک آنتی‌بادی مونوکلونال جدید علیه آنتی ژن رویانی سرطان (Carcinoembryonic antigen) با استفاده از تزریق مکرر سلول‌های سرطانی روده HT29 به موش‌های Balb/C تهیه شد. این آنتی‌بادی با اکتسیم- 99m به روش غیر مستقیم از طریق فلزدا (Chelator) HYNIC نشان‌دار گردید که از بازده، پایداری، واکنش ایمنی و توزیع حیاتی مطلوب بر خوردار بود.

تشخیص زودهنگام و تعیین جایگاه تومور در بدن از مسائل مهمی است که بسیاری از پژوهشگران بر آن تاکید می‌کنند. از این رو در دو دهه گذشته، هدف محققین و تحقیقات پزشکی بر این پایه استوار بوده است تا با پیدا کردن روشی جدید، بیماری را به طور کامل در مراحل اولیه، تشخیص دهند و جایگاه آن‌را در بدن مشخص نمایند. بر این اساس استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال نشان‌دار شده با مواد رادیواکتیو برای تشخیص تومورها تحت عنوان رادیوایمونوسنتی گرافی مورد توجه قرار گرفت و تحقیقات بالینی انجام شده نشان دهنده بازده بالای این تکنیک در تشخیص تومورهای سرطانی بوده است (۸).

آنتی‌بادی‌ها مولکول‌های بزرگی هستند که از راه سیستم کبدی دفع می‌شوند. پس طبیعتاً تجمع زیادی از ترکیب نشان‌دار در کبد موجود می‌باشد و این امر طبیعی می‌باشد و منظور از تجمع غیر طبیعی، افزایش فعالیت در بافت‌هایی به جز خون و کبد، ۲۴ ساعت پس از تزریق می‌باشد.

در این تحقیق به یک نوع آنتی‌بادی مونوکلونال علیه سلول‌های سرطانی روده دست یافته شد. این آنتی‌بادی قادر به شناسایی آنتی ژن CEA روی این سلول‌ها می‌باشد و آنتی‌بادی مونوکلونال نشان‌دار شده با تکنسیم-99m حاصل از این پژوهش، می‌تواند در آینده‌ای نه چندان دور به عنوان یک ترکیب نشان‌دار جدید و یک انتخاب امیدوار کننده جهت مطالعات رادیوایمونوسیتی‌گرافی در سرطان روده‌انسان در پزشکی هسته‌ای مطرح شود.

توزیع حیاتی این ترکیب نشان‌دار در موش‌های طبیعی ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق انجام شد. این زمان‌ها برای آنتی‌بادی‌ها استاندارد می‌باشند. چنانچه ترکیب نشان‌دار ناپایدار باشد، در طی ۴ ساعت اول، بیش‌ترین فعالیت در کلیه ظاهر می‌شود و در غیر این صورت ترکیب حاصله در زمان‌های اولیه پس از تزریق، پایدار می‌باشد. همچنین ۲۴ ساعت پس از تزریق هم باید اکتیویته در خون موجود باشد، در غیر این صورت، ترکیب از پایداری مطلوب برخوردار نبوده است. با توجه به این که حرکت آنتی‌بادی‌ها در خون کند می‌باشد و برای رسیدن و تجمع در بافت هدف به زمان طولانی نیاز دارند، این پایداری در خون از اهمیت زیادی برخوردار است. در صورت ناپایداری ترکیب آنتی‌بادی نشان‌دار در خون، نتایج مطالعات RIS و RIT به هیچ وجه مطلوب نیستند و بیمار تحت پرتوگیری نامطلوب قرار می‌گیرد (۱۰).

فهرست منابع

1. Funaro A, Horenstein A.L, Santoro P. Monoclonal antibodies and therapy of human cancers. *Biotechnology Advance Rev* 2000; 18: 385-401.
2. Kohler G, Milstein C. Cotinuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495-497.
3. Suzanne E.A. Monoclonal antibodies targeting cancer: magic bullets or just the trigger? *Breast Cancer Res* 2001; 3: 86-90.
4. Granowska M, Britton K.E, Mather S.J. Radioimmiscintigraphy with 99mTc labeled monoclonal antibody, 1A3, in colorectal cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imag* 1993; 20: 690-698.
5. Julian A, Kim M.D. Targeted therapies for the treatment of cancer. *The American J Surgery* 2003; 186: 264-268.
6. Howard G.C, Bethell D.R. "Basic methods in antibody production and characterization," Florida. *CRC Press* 2001: 51-68.
7. Abrams MJ, Juweid M, tenKate C.I, Schwartz DA, Hauser MM, Gaul FE, Fucello AJ, Rubin RH, Strauss HW, Fischman AJ. Technetium-99m-human polyclonal IgG radiolabeled via the hydrazino nicotinamide derivative for

- imaging focal sites of infection in rats *J Nucl Med* 1990; 31: 2022-2028.
8. Margaret VM, Adam GP. Monoclonal antibody therapy for cancer. *J Med Annu Rev* 54: 343-369, 2003.
9. Bi-Xing C, Bernard EF. Intracellular delivery of monoclonal antibodies. *Immunol Lett* 2002; 84: 63-68.
10. Potamianos S, Varvarigou AD, Archimandritis SC. Radioimmunosintigraphy and radioimmunotherapy in cancer: principles and application. *Anticancer Res* 2000; 20: 925-948.

Archive of SID