تولید، کنترل کیفی و مطالعه توزیع زیستی رادیو ایمونوکنژوگه ^{67}Ga-Bn-DOTA-antiCD20 به منظور تصویر برداری از لنفوم غیر هوچکین

INC29-1299

محمد علیزاده[۲]، بهروز علیرضاپور[۱*]، سمانه ذوالقدری[۱]، حسن یوسف نیا[۱]، نعیمه امرایی[۳]

۱ پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران، ایران
۲ گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، تهران، ایران
۳ گروه مهندسی پرتو پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

چکیده:

در مطالعات فراوانی در حوزه تحقیق و توسعه رادیوداروهای مبتنی بر مونوکلونال آنتی بادی‌ها، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال متعددی توسط شلاتورهای دو منظوره (BFCA) مختلف با روش‌های متفاوت، به منظور توسعه زمینه‌ی رادیوداروهای درمانی و تشخیصی با رادیونوکلئیدهای مختلف نشاندار شده‌اند. در این مطالعه، رادیوایمونوکنژوگه ^{۶۷}Ga-Bn-DOTA-Rituximab (با خلوص رادیوشیمیایی بیشتر از ۹۶٪ ، اکتیویته ویژه ۵,۶۶ ± ۰,۹ μCi/μg) با میانگین شلاتور متصل شده به هر مولکول آنتی‌بادی با تعداد ۰,۹ ± ۳,۹ تهیه و برای ادامه مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. در مطالعات سلولی با هدف ارزیابی واکنش پذیری زیستی رادیوایمونوکنژوگه تهیه شده نسبت به رده سلولی Raji میانگین اتصال ۸۵٪ به دست آمد و ترکیب نشاندار شده تا ۴۸ ساعت پس از تهیه پایداری قابل توجهی از خود نشان داد. در مطالعات ارزیابی توزیع زیستی، تجمع رادیوایمونوکنژوگه در بافت‌های مورد مطالعه الگوی مشابه با سایر رادیوداروهای نشاندار شده ضد CD20 را از خود نشان داد.

کلیدواژه‌ها: گالیم-۶۷، ریتوکسیمب، لنفوم غیر هوچکین، رادیوایمونوکنژوگه، CD20، p-SCN-Bn-DOTA

Preparation, Quality control and Bio distribution studies of the ^{67}Ga-Bn-DOTA-anti CD20 for Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) Imaging

Alizadeh M[2], Alirezapour B[1*], Alizadeh M[2], Zolghadri S[1], Yousefnia H[1], Amraee N[3]

[1] Radiation Application Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, IRAN
[2]Department of Clinical Biochemistry, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, IRAN
[3]Department of Medical Radiation Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University (IAU), Tehran, IRAN

Abstract:

Monoclonal antibodies are labeled through different BFCs and different methods by different radionuclides with the aim of developing diagnostic and therapeutic radiopharmaceuticals. This paper describes ^{67}Ga-Bn-DOTA-Rituximab was prepared (RCP >96%, Specific activity 5.66 ± 0.9 μCi/μg), 3.9 ± 0.9 as average number of chelators attached to a mAb (c/a) used for following studies. Immunoreactivity study showed 85% and radiolabeled compound showed the significant stability over 48h. The accumulation of the radiolabeled antibody in selected tissues demonstrates a similar pattern to the other radiolabeled anti-CD20 immunoconjugates.

Keywords: ^{67}Ga, Rituximab, Non-Hodgkin lymphoma, Radioimmunoconjugate, CD20, p-SCN-Bn-DOTA

۱.مقدمه

آنتی‌بادی‌های مونوکلونال نشاندارشده با رادیونوکلئیدهای مختلف، امید بخش برای درمان و تشخیص انواع سرطان می باشند(۱). ریتوکسیمب، آنتی بادی مونوکلونال کایمریک می‌باشد که توسط سازمان غذا و دارو ایالت متحده (FDA)[1] برای ایمونو تراپی لنفوم غیرهوچکین(NHL)[2] مورد تایید قرار گرفته است. در بین انواع سرطان، بدخیمی‌های سلول-های خونی وجود دارد که به سه گروه کلی تقسیم می‌شوند که شامل: لنفوما ، لوکمیا و میلوما می‌باشند. این بدخیمی‌ها، به طور گسترده در حال شیوع بوده و طبق آمارها لنفوم غیرهوچکین ($CD20^+$) رایجترین سرطان هماتولوژیک در بزرگسلان محسوب می‌شود(۲, ۳).

ریتوکسیمب، اولین آنتی‌بادی مونوکلونال است که در آنکولوژی ایفای نقش کرده است و هنوز به طور گسترده، مورد استفاده قرار می‌گیرد. از زمان تائید ریتوکسیمب توسط سازمان غذا و دارو، تا کنون انقلابی عظیم در درمان و تشخیص بدخیمی‌های B سل ایجاد شده است و به عنوان یک جزء استاندارد، برای مراقبت و درمان این بدخیمی به حساب می-آید. استفاده از این آنتی‌بادی به صورت داخل وریدی در سال ۱۹۷۷ توسط سازمان غذا و دارو در ایلت متحده و در سال ۱۹۹۸ توسط آژانس تصویب مقررات دارویی در اروپا جهت استفاده در لنفوم غیر هوچکین تدریجی یا مبهم یا عود شونده/مقاوم، مورد تایید قرار گرفت(۴, ۵). ریتوکسیمب تمایل خاص و ویژه به آنتی ژن CD20 دارد. آنتی ژن CD20، به صورت آزاد در گردش خون یا پلاسما وجود ندارد و اختصاصا در سطح B سل های نرمال و بد خیم بیان می شود(۶, ۷). یکی دیگر از دلایل انتخاب این آنتی‌بادی برای این تحقیق، توانایی تولید آن در کشور می‌باشد که وابستگی به انواع خارجی را می‌توان مرتفع نمود.

عوامل شلات کننده ترکیباتی هستند که، قادرند به ترکیبات مختلفی از قبیل رادیو فلزات و سایر ترکیبات متصل شوند. این ترکیبات شیمیایی، تشکیل پیوند با عوامل مورد نظر ما را از طریق گروه‌های عملکردی خود که لیگاند نامیده می-شوند به انجام می‌رسانند در تولید رادیوایمونوکونژوگه‌ها، برای ایجاد ارتباط قوی بین جزء بیولوژیکی(آنتی بادی مونوکلونال و قطعات آنتی بادی) و جزء رادیواکتیو، نیاز به یک رابط یا جزء شیمیایی می باشد تا رادیو داروی تولید شده دارای پایداری و نیز عملکرد مناسب در داخل بدن باشد. بنابراین از استراتژی های مورد استفاده جهت ایجاد ارتباط دو بخش مذکور در نشاندارسازی غیر مستقیم استفاده از عوامل شلاته کننده دو منظوره می باشد که توانایی اتصال به بخش بیولوژیک را به صورت کووالان دارند و بطور کارامد با رادیو فلزات کمپلکس تشکیل می دهند.(۶, ۸)

در بین انواع شلاتورهای موجود توجه خاصی به تعدادی از آنها در سال های اخیر شده است. مشتقات شلاتور DOTA (۱، ۴، ۷ و۱۰ تترا آزا سیکلو دودکان، ۱، ۴، ۷، ۱۰ تترا استیک اسید) عوامل شلاته کننده دو منظوره می باشند که بطور گسترده در سنتز رادیو ایمونوکونژوگه ها مورد استفاده می باشد. مهمترین علت این استفاده وسیع از این شلاتور در تهیه رادیو داروها تشکیل کمپلکس پایدار در ایجاد و توسعه مونوکلونال آنتی بادی های نشاندار شده با انواع رادیونوکلئید ها می باشد.(۹) شلاتور p-SCN-Bn-DOTA از طریق ایجاد اتصال با گروههای اپسیلون از اسید آمینه لیزین در آنتی بادی ریتوکسیمب مورد استفاده قرار می گیرد .(۶, ۱۰)

ما در این مطالعه، آنتی‌بادی ریتوکسیمب کنژوگه شده با شلاتور دو منظوره p-SCN-Bn-DOTA را با رادیو نوکلید گالیوم-۶۷ (گالیوم-۶۷ تولید شده در سیکلوترون، نیمه عمر ۷۷,۹ ساعت، تشعشع گاما با انرژی های ۹۳، ۱۸۴ و ۲۹۶ keV) نشاندار کردیم. پس از انجام کنترل کیفی و تعیین خلوص رادیوشیمیایی و انجام مطالعه پایداری رادیوداروهای تولید شده، مطالعات توزیع زیستی در رت‌های سالم انجام پذیرفت و نیز واکنش‌پذیری ایمنی از طریق مطالعه بر روی

[1] Food and Drug Administration
[2] Non Hodgkin Lymphoma

رده سلولی RAJI (رده سلولی لنفوم می‌باشد که در سطح این سلول‌ها، آنتی ژن CD20 بیش از حد بیان شده است ($CD20^{+}$) مورد ارزیابی قرار گرفت.

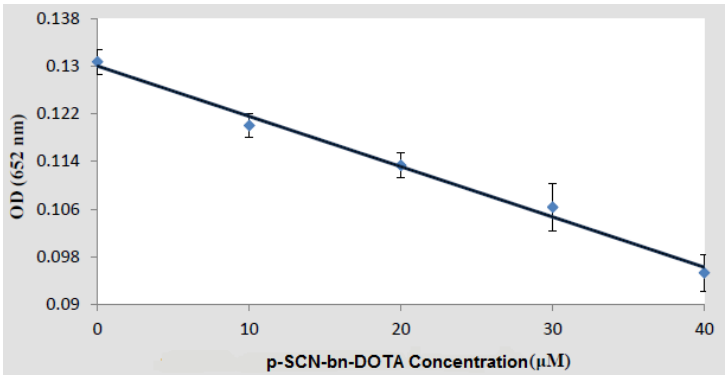
۲.روش کار

۱,۲ کنژوگاسیون آنتی‌بادی ریتوکسیمب با شلاتور p-SCN-Bn-DOTA

جهت دستیابی به رادیوایمونوکنژوگه مطلوب از نظر یکنواختی ترکیبات و نیز پایدار از نظر بیولوژیکی، نیاز به آنتی‌بادی خالص و عاری از هر گونه ناخالصی می‌باشد. در این مطالعه آنتی‌بادی ریتوکسیمب از شرکت آریوژن خریداری شد. در این مرحله برای جداسازی ترکیبات نگهدارنده‌ای که، برای حفظ پایداری آنتی‌بادی به آن اضافه شده است، از روش الترافیلتراسیون که با استفاده از فیلترهای ۳۰ کیلو دالتون آمیکون انجام می‌شود، استفاده شد. سپس به منظور تهیه کمپلکس ایمونوکنژوگه پایدار، آنتی بادی ریتوکسیمب با شلاتور p-SCN-Bn-DOTA در سه نسبت مولار مختلف از شلاتور به آنتی بادی (۲۵، ۵۰ و ۸۰) در شرایط یکسان (در بافر بیکربنات سدیم ۰,۲ مولار با pH: 9.2 در ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲-۱۵ ساعت) تحت واکنش قرار گرفت. پس از اتمام زمان مذکور، به منظور جداسازی شلاتورهای متصل نشده از روش اولترافیلتراسیون با فیلترهای ۳۰ کیلو دالتون آمیکون استفاده شد.

تخمین تعداد میانگین شلاتور متصل شده به هر مولکول آنتی بادی

میانگین تعداد شلاتور متصل شده به هر مولکول آنتی بادی با استفاده از روش Pipin به شرح زیر محاسبه گردید(۱۱). برای تهیه کمپلکس ایتریوم آرسنازو به فرمول $Y(AA\ III)_2$، از مواد زیر استفاده گردید: آرسنازو ۵ میکرومولار، ایتریوم ۱,۶ میکرومولار و بافر استات سدیم ۰,۱۵ مولار در ۴۵۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر حل شدند و پس از تنظیم pH:۴ حجم به ۵۰۰ میلی لیتر رسانده شد و در ظرفی در محیط تاریک در دمای اتاق نگهداری شد. ماکزیمم جذب محلول فوق در ۶۵۲ نانومتر است. با افزودن شلاتور p-SCN-Bn-DOTA با غلظت‌های مختلف به کمپلکس آرسنازو-ایتریوم، ایتریوم از آرسنازو جدا شده و درون شلاتور اضافه شده جای می‌گیرد. به این ترتیب جذب حاصل از کمپلکس در محلول کاهش می‌یابد که میزان کاهش با مقدار شلاتور افزوده شده ارتباط دارد (نمودار ۱).



نمودار۱. منحنی کاهش جذب کمپلکس آرسنازو-ایتریوم در مقابل شلاتور p-SCN-Bn-DOTA . نشانگر این است که جذب نوری کمپلکس ایتریوم آرسنازوIII با فرمول $Y(AAIII)_2$ با افزایش چهار غلظت ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرومولاری از شلاتور p-SCN-Bn-DOTA به کمپلکس در طول موج ۶۵۲ نانومتر کاهش می‌یابد. این کاهش نشانگر جایگزین شدن آرسنازو با شلاتور مذکور می‌باشد.

۲,۲ نشاندارسازی ایمونوکنژوگه p-SCN-Bn-DOTA -Rituximab با گالیوم-۶۷ و کنترل کیفی جهت تعیین خلوص رادیو شیمیایی

ایمونوکنژوگه p-SCN-Bn-DOTA-Rituximab با گالیوم-۶۷ کلراید، به شرح زیر نشاندار شد. به این ترتیب که مقدار سه میلی‌گرم از ایمونوکنژوگه را، با مقدار ۹ میلی‌کوری از گالیوم-۶۷ را تحت واکنش در شرایط دمایی ۳۷ درجه

سانتیگراد به مدت زمان ۶۰ دقیقه، در بافر نشاندارسازی (بافر استات آمونیوم با pH: 5.5) قرار داده و پس از اتمام زمان مذکور جهت حصول اطمینان از اینکه در مراحل کنژوگاسیون و نشاندارسازی، آنتی‌بادی دچار تغییر نشده باشد و نیز جهت تعیین درصد خلوص رادیوشیمیایی در مرحله نشاندارسازی و نیز تعیین پایداری رادیوایمونوکنژوگه های سنتز شده، انجام آزمون‌های کنترل کیفی آنتی بادی‌های نشاندار شده، امری ضروری می‌باشد. به این ترتیب که از ویال حاوی محلول واکنش، نمونه‌هایی جهت تعیین درصد خلوص رادیوشیمیایی گرفته شد، که با استفاده از رادیوکروماتوگرافی لایه نازک [۳](RTLC) انجام پذیرفت. رادیو کروماتوگرافی روشی کیفی و کمی می‌باشد که به صورت خیلی دقیق، نمونه‌های موجود در واکنش‌های نشاندارسازی شده را نشان می‌دهد.

۳,۲ بررسی پایداری رادیوایمونوکنژوگه ^{67}Ga-DOTA -Rituximab

به منظور انجام مطالعات درون‌تنی و برون‌تنی اطمینان از پایداری رادیو داروی تولید شده در زمان‌ها ، شرایط متفاوت و دماهای مختلف امری ضروری می‌باشد. بنابراین پایداری رادیوایمونوکنژوگه ^{67}Ga-DOTA-Rituximab در سرم ، بافر فسفات و نیز در فرمولاسیون نهایی در بازه های زمانی مختلف پس از تولید، مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب که مقدار ۱۰ میکروگرم یا حدود ۲۰۰ تا ۳۰۰ میکروکوری از رادیو ایمونوکنژوگه ^{67}Ga-DOTA-Rituximab را به طور جداگانه به ویال‌های حاوی ۱ میلی‌لیتر سرم انسانی تازه (دمای ۳۷ درجه سانتیگراد)، بافر فسفات [۴](PBS) (۴ درجه سانتیگراد) و بافر استات آمونیوم (بافر فرمولاسیون نهایی) (دمای اتاق) اضافه کرده و نمونه‌ها در بازه های زمانی ۲ ، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از شروع مطالعه از نظر خلوص رادیو شیمیایی با استفاده از رادیوکروماتوگرافی مورد بررسی قرار گرفتند.

۴,۲ بررسی واکنش پذیری ایمنی (ایمونوراکتیویتی) رادیوایمونوکنژوگه ^{67}Ga-DOTA-Rituximab در رده سلولی Raji

جهت بررسی اختصاصیت اتصال آنتی‌بادی مونوکلونال ریتوکسیمب به آنتی ژن CD20 و همچنین اندازه گیری واکنش پذیری ایمنی که نشانگر میزان اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن CD20 می‌باشد، که در رده‌های سلولی Raji بیش از حد بیان می‌گردد، از روش Lindmo بهره گرفتیم.(۱۲) به این ترتیب که از رده سلولی Raji رقت‌های متوالی با غلظت‌های مختلف ۵×۱۰^{۶} ، $۲,۵\times۱۰^{۶}$ ، $۱,۲\times۱۰^{۶}$ ، ۶×۱۰^{۵} ، ۳×۱۰^{۵} و $۱,۵\times۱۰^{۵}$ سلول تهیه شده و با ۵۰۰ میکرولیتر PBS به حجم می‌رسانیم. به هر یک از فالکون‌های حاوی رده سلولی Raji به طور جداگانه مقدار ۸۰-۱۰۰ نانو گرم یا حدود ۱۵۰۰ cps[۵] از رادیو داروی ^{67}Ga- DOTA-Rituximab را اضافه می‌کنیم. سپس جهت ایجاد اتصال سلول‌ها با رادیوداروی تولید شده فالکون ها را در دمای ۴ درجه سانتیگراد روی شیکر برای مدت زمان ۱۵ ساعت قرار می‌دهیم پس از اتمام مدت زمان انکوباسیون سلول‌ها، محتویات داخل هر فالکون را با شمارشگر گامای چاهکی شمارش می‌کنیم و عدد به دست آمده به عنوان اکتیویته کل اضافه شده در نظر گرفته می‌شود. سپس با سانتریفیوژ و جداسازی سلول ها از سایر محتویات، فالکون‌های حاوی پلاک های سلول را مجددا با گاما کانت چاهکی مورد شمارش قرار می‌دهیم. این مقدار به عنوان داروی جذب شده به سلول در نظر گرفته می‌شود. با استفاده از معادله لینوربرک و با رسم منحنی اکتیویته کل به اکتیویته متصل شده در مقابل عکس غلظت سلول‌ها، درصد آنتی بادی‌های اتصال یافته به آنتی ژن CD20 به دست می‌آید.

۵,۲ بررسی توزیع زیستی رادیوایمونوکنژوگه ^{67}Ga-DOTA-Rituximab در رت های سالم:

[3] Radio Thin Layer Chromatography
[4] Phosphate Buffer Saline
[5] Count Per Second

به منظور بررسی توزیع زیستی رادیوداروی تولید شده در اندام‌های مختلف، مطالعه توزیع زیستی در رت‌های سالم در بازه‌های زمانی ۴، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق، انجام شد. به ترتیب که پس از تولید رادیوداروی ^{67}Ga-DOTA-Rituximab و انجام مراحل کنترل کیفی جهت تعیین خلوص رادیوشیمیایی، به هر رت مقدار ۵۰ میکروگرم با اکتیویته ۲۵۰ میکروکوری رادیودارو به صورت داخل وریدی تزریق شد. رت‌ها در زمان‌های مذکور پس از تزریق، توسط مخزن Co_2 قربانی شدند و بافت‌های حیاتی مختلف نظیر کبد و طحال و کلیه و ... از نظر توزیع رادیو دارو با استفاده از آشکارساز ژرمانیم با خلوص بالا برحسب درصد دز تزریق شده در هر گرم بافت، تعیین گردید.

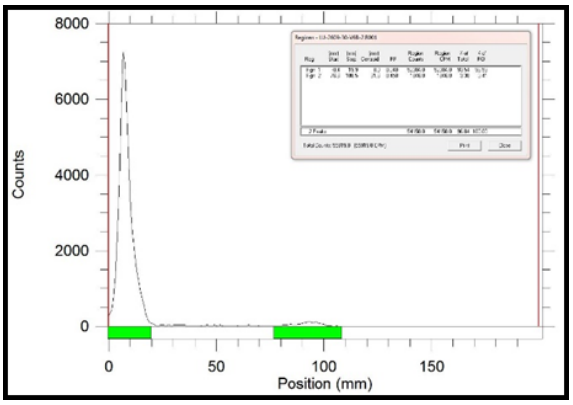
۳.نتایج و بحث

واکنش کنژوگاسیون شلاتور با آنتی‌بادی، در سه نسبت مولار مختلف از شلاتور به آنتی بادی (۲۵، ۵۰ و ۸۰) انجام پذیرفت که میانگین تعداد شلاتورهای متصل شده به هر مولکول آنتی‌بادی، به ترتیب ۰,۴ ± ۲,۴ ، ۰,۹ ± ۳,۹ و ۰,۸± ۵,۴ به دست آمد (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین تعداد شلاتور / آنتی بادی مونوکلونال در سه نسبت مولار مختلف از شلاتور اضافه شده در واکنش کنژوگاسیون.

Bifunctional chelator	Immunoconjugate	Molar excess of chelator added to conjugation reaction	Average number of Chelators/mAb
p-SCN-Bn-DOTA	Bn-DOTA -Rituximab	25	2.4 ± 0.4
		50	3.9 ± 0.9
		80	5.4 ± 0.8

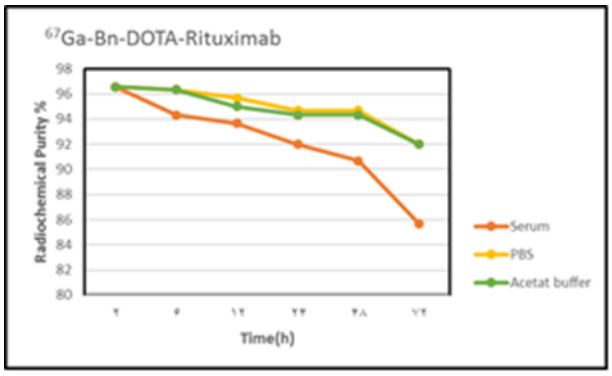
در این مرحله، به منظور حذف شلاتورهای متصل نشده به آنتی‌بادی و افزایش بازده نشاندارسازی و نیز به منظور توقف واکنش کنژوگاسیون، از روش اولترافیلتراسیون که روشی ساده و ارزان می‌باشد، توسط فیلترهای آمیکون در بافر استات آمونیوم انجام پذیرفت. پس از خالص‌سازی، ایمونوکنژوگه تهیه شده تحت شرایط بهینه شده (دمای ۳۷ درجه و زمان ۶۰ دقیقه) با گالیوم-۶۷ کلراید تحت واکنش نشاندارسازی قرا گرفت، که پس از اتمام واکنش خلوص رادیو شیمیایی با استفاده از RTLC (رادیوکر.ماتوگرافی لایه نازک) بیشتر از ۹۶٪ به دست آمد (شکل۱). در این شکل ایمونوکنژوگه نشاندار شده با گالیوم-۶۷ در RF پایین (۰,۱) (ابتدای کروماتوگرام) و مقدار گالیوم-۶۷ آزاد به منطقه با RF بالاتر(۰,۹) مهاجرت کرده است. نتایج به دست آمده، مطابق با نتایج به دست آمده در سایر مطالعات می‌باشد(۱۳).



شکل ۱: کروماتوگرام ITLC از نمونه رادیوایمونوکنژوگه ^{67}Ga-Bn-DOTA-Rituximab در کاغذ واتمن شماره ۲ با استفاده از محلول DTPA ۱ میلی مولار به عنوان فاز متحرک (pH=5).

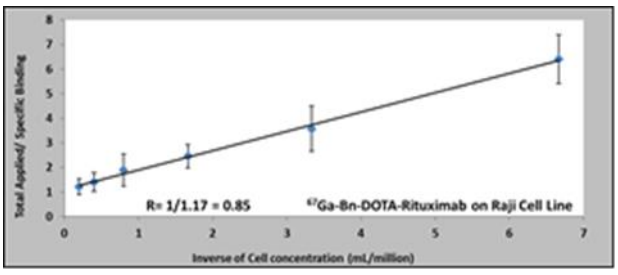
که در نهایت ^{67}Ga-DOTA-Rituximab (با خلوص رادیوشیمیایی بیشتر از ۹۶٪ و اکتیویته ویژه 0.9 ± 5.66 μCi/μg) برای انجام سایر مراحل مطالعه تهیه شد. انتخاب دمای مناسب و بهینه در مرحله نشاندارسازی، حائز اهمیت می‌باشد، زیرا در دماهای بالا، به ساختار مولکول آنتی‌بادی آسیب وارد شده و این امر، منجر به کاهش کارایی در اتصال به آنتی‌ژن می‌شود.

پایداری برون‌تنی در بافر فسفات، سرم انسانی و فرمولاسیون نهایی تا ۷۲ ساعت پس از تهیه به ترتیب ۹۲٪ ، ۸۶٪ و ۹۲٪ به دست آمد (شکل ۳). نتایج حاصل از این مرحله، بیانگر این است که رادیوایمونوکنژوگه تولید شده در دماها و محیط‌های مختلف، از نظر شیمیایی دارای پایداری لازم می‌باشد که این موضوع، صحت انجام مراحل قبل را در شرایط مناسب انجام شده در این مطالعه را تصدیق می‌کند.



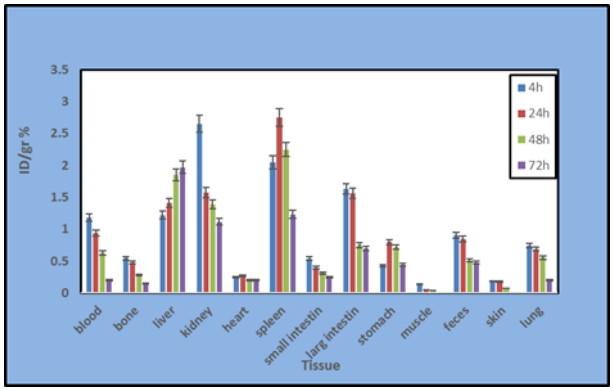
شکل ۳: آزمون پایداری رادیوایمونوکنژوگه در سرم تازه انسانی، بافر فسفات و بافر استات در بازه‌های زمانی مختلف (۲، ۶، ۱۲، ۴۸ و ۷۲ ساعت).

مطالعه واکنش‌پذیری زیستی، اتصال ۸۵٪ از رادیوایمونوکنژوگه به رده سلولی Raji را نشان داد (شکل ۲). که این نشانگر اختصاصیت اتصال آنتی‌بادی ریتوکسیمب به آنتی ژن CD20 می‌باشد که، در سطح سلول‌های سرطانی شده در لنفوم، بیش از حد بیان شده‌اند و می‌توان به صورت کاملا هدفمند، سلول‌های سرطانی را در سطح مولکولی در مراحل قبل و بعد از درمان مورد پایش و مطالعه قرار داد.



شکل ۲: واکنش‌پذیری زیستی ^{67}Ga-Bn-DOTA-Rituximab نسبت به رده سلولی Raji در غلظت‌های مختلف سلولی.

توزیع زیستی رادیوایمونوکنژوگه در رت‌های سالم، در طول فواصل زمانی ۴، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق درون وریدی، در شکل ۴ به صورت درصد دز تزریق شده در هر گرم از بافت (%ID/g)، نشان داده شده است. تجمع آنتی-بادی نشاندار شده در بافت‌های ریه، کبد، طحال و سایر بافت‌ها مشابه با الگوی توزیع سایر ایمونوکنژوگه های نشاندار شده در مطالعات انجام شده می‌باشد (۱۳, ۱۴). به نظر می‌رسد که افزایش تجمع در کبد و طحال، به دلیل پاکسازی گالیم از منابع مختلف و یا جذب از طریق مجاری گوارشی و حمل آن توسط ترانسفرین و نهایتا انباشت در بافت کبد و طحال باشد. نتایج به دست آمده مطابق با نتایج به دست آمده در سایر مطالعات انجام شده می‌باشد(۱۳).



شکل ۴: درصد دز تزریق شده به هر گرم بافت (% ID/g) از رادیوایمونوکنژوگه ^{67}Ga-Bn-DOTA-Rituximab در رت‌های سالم در فواصل زمانی مختلف ۴، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق.

نتایج حاصل از این مطالعه و سایر مطالعات انجام شده‌ی این تیم در این زمینه، نشان می‌دهد که رادیوایمونوکنژوگه ^{67}Ga-DOTA-Rituximab، یک ترکیب موثر و بالقوه به منظور استفاده در بالین، با هدف تشخیص و نیز پایش مراحل درمانی با استفاده از SPECT در افراد مبتلا به لنفوم غیر هوچکین می‌باشد.

منابع:

.۱ Alirezapour B, Rasaee MJ, Jalilian AR, Rajabifar S, Mohammadnejad J, Paknejad M, et al. Development of [64Cu]-DOTA-PR81 radioimmunoconjugate for MUC-1 positive PET imaging. 2016;43(1):73-80.

.۲ Johari Doha F, Rahmani S, Rikhtechi P, Rasaneh S, Sheikholislam Z, Shahhosseini S. Development of DOTA-Rituximab to be Labeled with (90)Y for Radioimmunotherapy of B-cell Non-Hodgkin Lymphoma. Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR. 2017;16(2):619-29.

.۳ Blosser N, Jupp J, Yau P, Stewart D. Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations in Treating Non-Hodgkin Lymphoma. Clinical pharmacokinetics. 2020;59(1):7-23.

.۴ Yordanov AT, Hens M, Pegram C, Bigner DD, Zalutsky MRJNm, biology. Antitenascin antibody 81C6 armed with 177Lu: in vivo comparison of macrocyclic and acyclic ligands. 2007;34(2):173-83.

.۵ Ugur O, Kothari PJ, Finn RD, Zanzonico P, Ruan S, Guenther I, et al. Ga-66 labeled somatostatin analogue DOTA-DPhe1-Tyr3-octreotide as a potential agent for positron emission tomography imaging and receptor mediated internal radiotherapy of somatostatin receptor positive tumors. Nuclear medicine and biology. 2002;29(2):147-57.

.۶ Lattuada L, Barge A, Cravotto G, Giovenzana GB, Tei L. The synthesis and application of polyamino polycarboxylic bifunctional chelating agents. Chemical Society reviews. 2011;40(5):3019-49.

.۷ Brechbiel MW. Bifunctional chelates for metal nuclides. The quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging : official publication of the Italian Association of Nuclear Medicine (AIMN) [and] the International Association of Radiopharmacology (IAR), [and] Section of the So. 2008;52(2):166-73.

.۸ Banerjee S, Pillai MR, Knapp FF. Lutetium-177 therapeutic radiopharmaceuticals: linking chemistry, radiochemistry, and practical applications. Chemical reviews. 2015;115(8):2934-74.

.۹ Audicio PF, Castellano G, Tassano MR, Rezzano ME, Fernandez M, Riva E, et al. [177Lu] DOTA-anti-CD20: labeling and pre-clinical studies. 2011;69(7):924-8.

.۱۰ Brechbiel MWJTQJoNM, Imaging M. Bifunctional chelates for metal nuclides. 2008;52(2):166.

.۱۱ Pippin CG, Parker TA, McMurry TJ, Brechbiel MW. Spectrophotometric method for the determination of a bifunctional DTPA ligand in DTPA-monoclonal antibody conjugates. Bioconjugate chemistry. 1992.۳۴۲-۵:(۴)۳;
.۱۲ Lindmo T, Boven E, Cuttitta F, Fedorko J, Bunn PA, Jr. Determination of the immunoreactive fraction of radiolabeled monoclonal antibodies by linear extrapolation to binding at infinite antigen excess. Journal of immunological methods. 198.۷۷-۸۹:(۱)۷۲;۴
.۱۳ Alirezapour B, Jalilian AR, Bolourinovin F, Moradkhani SJIJoPRI. Production and quality control of [67Ga]-DOTA-trastuzumab for radioimmunoscintigraphy. 2013;12(2):355.
.۱۴ Guleria M, Das T, Kumar C, Sharma R, Amirdhanayagam J, Sarma HD ,et al. Effect of number of bifunctional chelating agents on the pharmacokinetics and immunoreactivity of 177Lu-labeled rituximab: a systemic study. 2018;18(1):146-53.