بررسی توزیع IgG نشاندار شده با I-125 در موش‌های سالم و ملتهب

محمد حسین بابائی، ثریا شاه‌حسینی، رضا نجفی

بخش رادیو ایزوتوپ‌های مرکز تحقیقات هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران و
دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

چکیده

آنتی‌بادی‌های نشاندار شده با مواد رادیواکتیو گروه جدیدی از عوامل تصویربرداری را تشکیل می‌دهند که در تشخیص محل بیماری بکار می‌روند. اگر چه نتایج رضایتبخشی تا به حال حاصل شده است اما تجارب بالینی نشاندهنده تجمع کم اکتیویته در بافت هدف و تجمع بالای اکتیویته در بافت‌های سالم می‌باشد که تحقیقات وسیعتری را جهت بهبود توزیع حیاتی آنتی‌بادی‌های نشاندار شده با مواد رادیواکتیو می‌طلبد. در مطالعه حاضر توزیع حیاتی IgG نشاندار شده با I-125 در موش‌های سالم و موش‌هایی با التهاب در ران چپ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که I-125-IgG در عضله ملتهب بیش از عضله سالم تجمع یافته و مقدار اکتیویته در عضله ملتهب برخلاف بافت‌های سالم به مرور زمان افزایش می‌یابد و در صورتی که با اتخاذ روش‌های جدید نشاندار کردن اکتیویته بافت‌های سالم کاهش یابد در آن صورت آنتی‌بادی‌های نشاندار شده با مواد رادیواکتیو در تعیین محل التهاب مفید خواهند بود.

مقدمه

ایمونوگلوبولین یا آنتی‌بادی‌ها جزو گلیکوپروتئین‌ها می‌باشند که به طور اختصاصی با آنتی‌ژن اتصال یافته و بدنبال آن پاسخ‌های ثانویه در in-vivo ایجاد می‌شوند. ساختمان و اجزاء تشکیل دهنده آنتی‌بادی‌ها به خوبی توسط محققین تشریح شده‌اند (۱).

اغلب کاربردهای آنتی‌بادی‌ها در تحقیقات پایه - تشخیص و ایمونوتراپی (Immunotherapy) براساس نشاندار کردن آنتی‌بادی با مواد مختلف از جمله رادیو نوکلیدها، آنزیم‌ها، سموم و غیره می‌باشد (۲). آنتی‌بادی‌های نشاندار با مواد رادیواکتیو گروه جدیدی از عوامل تصویربرداری را تشکیل می‌دهند که در شناسایی محل بیماری (sites of disease) بکار می‌روند. روش تصویربرداری خارجی که بعد از تزریق آنتی‌بادی‌های رادیواکتیو به منظور مشخص کردن کانون‌های افزایش اکتیویته صورت می‌گیرد رادیو ایمونودیتکشن (Radioimmunodetection=RID) یا رادیوایمونوسنتی‌گرافی (Radioimmunoscintigraphy=RIS) نامیده می‌شود. اگرچه RID اولین بار برای شناسایی بافت‌های بدخیم بکار رفت ولی کاربردهای دیگری هم از آن حاصل شده است مثل تصویربرداری آنفارکتوس قلبی، التهاب، پلاک‌های آترواسکلروتیک

(Atherosclerotic plaques) و غیره. رادیونوکلیدهای مختلفی برای نشاندار کردن آنتی‌بادی‌ها بکار رفته‌اند مثل 99mTc، In-111، I-125 و .....

در مطالعه حاضر IgG انسانی با I-125 و روش کلرآمین – T یدینه شده است. کلرآمین – T یک عامل اکسیدکننده ملایمی بوده که به آرامی اسید هیپوکرونس را در محلول مائی آزاد کرده و باعث اکسید شدن ید می‌شود. ید به طور کووالان به حلقه آروماتیک اسید آمینه تیروزین آنتی‌بادی وصل می‌شود (۳). پس از نشاندار کردن توزیع حیاتی I-125-IgG در موش‌های سالم و ملتهب بررسی شدند.

مواد و روش‌ها

I-125 به صورت NaI-125 با فعالیت ویژه 100μci/μl از Amersham خریداری شد.

IgG از پلاسمای انسانی تهیه شد (۴).

IgG با روش کلرآمین – T یدینه شد (۵).

40μl ترپنتین در قسمت عقب ران چپ موش (Balb/c mice) تزریق شده و سپس موش‌ها به مدت ۴۸ ساعت در شرایط طبیعی قرار گرفتند تا این که التهاب در ران چپ ایجاد شد. بعد از ۴۸ ساعت مقدار I-125-IgG 15μci معادل 0.1 ml از طریق سیاهرگ دمی به هر موش تزریق شد. تعداد کل موش‌هایی که به آنها I-125-IgG تزریق شد ۴۸ عدد بوده که ۲۴تای آنها قبلاً ترپنتین دریافت کرده بودند.

۴ موش سالم و ۴ موش ملتهب را در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۲۴، ۲۸ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق اکتیویته با اتر کشته و سپس اعضای انتخابی (خون، طحال، کبد، معده، روده، کلیه، ماهیچه‌ران چپ، ماهیچه‌ران راست و یک استخوان ران) را برداشته و در لوله‌هایی از قبل وزن شده گذاشته و اکتیویته آنها اندازه گرفته شد. درصد دز تزریقی در هر گرم بافت (%ID/g tissue) تعیین شد. با اندازه‌گیری اکتیویته سرنگ قبل از تزریق و بعد از تزریق دز تزریق شده کل حاصل می‌شود.

نتایج

نتایج توزیع اکتیویته در اعضای انتخابی موش‌های سالم و ملتهب در جدول‌های ۱ و ۲ و منحنی‌های مربوطه در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

نتایج نشان می‌دهد که میزان اکتیویته بافت‌های سالم مثل خون و معده و کلیه‌ها در موش‌های سالم و ملتهب بالا بوده و با مرور زمان کاهش می‌یابد. در موش‌های سالم بین اکتیویته ران چپ و ران راست اختلاف معنی‌داری وجود ندارد در حالی که در موش‌های ملتهب اختلاف معنی‌دار است و اکتیویته ران چپ و به مرور زمان افزایش یافته و مدت زمان بیشتری نسبت به خون بالا می‌ماند و پس از ۲۴ ساعت رو به کاهش می‌گذارد. در حالی که اکتیویته خون و سایر اعضاء با مرور زمان کاهش می‌یابد. در ضمن اختلاف معنی‌داری در برداشت (Uptake) اغلب بافت‌ها بین موش‌های سالم و ملتهب وجود ندارد.

بحث

آنتی‌بادی‌های نشاندار شده با مواد رادیواکتیو در مطالعات تصویربرداری و درمانی به مقدار زیادی استفاده شده‌اند. اگرچه نتایج رضایتبخشی هم در رادیوایمونوتراپی و رادیوایمونوسنتی‌گرافی حاصل شده است اما بررسی توزیع حیاتی آنتی‌بادی‌های نشاندار تجمع کم اکتیویته در بافت هدف و تجمع بالای اکتیویته در بافت‌های سالم را نشان می‌دهد. از آنجایی

که نتایج ایمونوتراپی یا ایمونوسنتی‌گرافی بستگی زیادی به نسبت اکتیویته بافت هدف به بافت‌های سالم دارد تحقیقات وسیعی صورت گرفته است تا توزیع حیاتی آنتی‌بادی‌های نشاندار با مواد رادیواکتیو بهبود یابد که از جمله می‌توان به تغییر روش‌های نشاندار کردن اشاره کرد (۶).

در مطالعه حاضر IgG به روش کلرآمین – T یدینه شده است. در این روش ید در موقعیت ارتو گروه هیدروکسیل حلقه آروماتیک اسید آمینه تیروزین آنتی‌بادی قرار گرفته که از این نظر با هورمون تیروئید شباهت ساختمانی دارد و در in-vivo دیدینه می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نشاندهنده اکتیویته بالای خون و معده و روده‌ها و کلیه‌ها در موش‌های سالم و ملتهب بوده و اختلاف معنی‌داری را در اکتیویته اغلب بافت‌ها بین موش‌های سالم و ملتهب نشان نمی‌دهد. همانطور که از جدول ۲ و شکل ۲ مشخص است در موش‌های ملتهب اکتیویته ران چپ (باف ملتهب) نسبت به ران راست (بافت سالم) بشتر بوده و با مرور زمان افزایش می‌یابد. در ران چپ مقدار ID/g% از ۲٪ در ساعت ۲ به ۵٪ در ساعت ۲۴ می‌رسد اما اکتیویته اعضای دیگر با زمان کاهش می‌یابد مثلاً در خون مقدار ID/g% از ۱۸٪ در ساعت ۲ به ۷/۵٪ در ساعت ۲۴ می‌رسد. در موش‌های سالم بین اکتیویته ران چپ و ران راست اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۱ و شکل ۱).

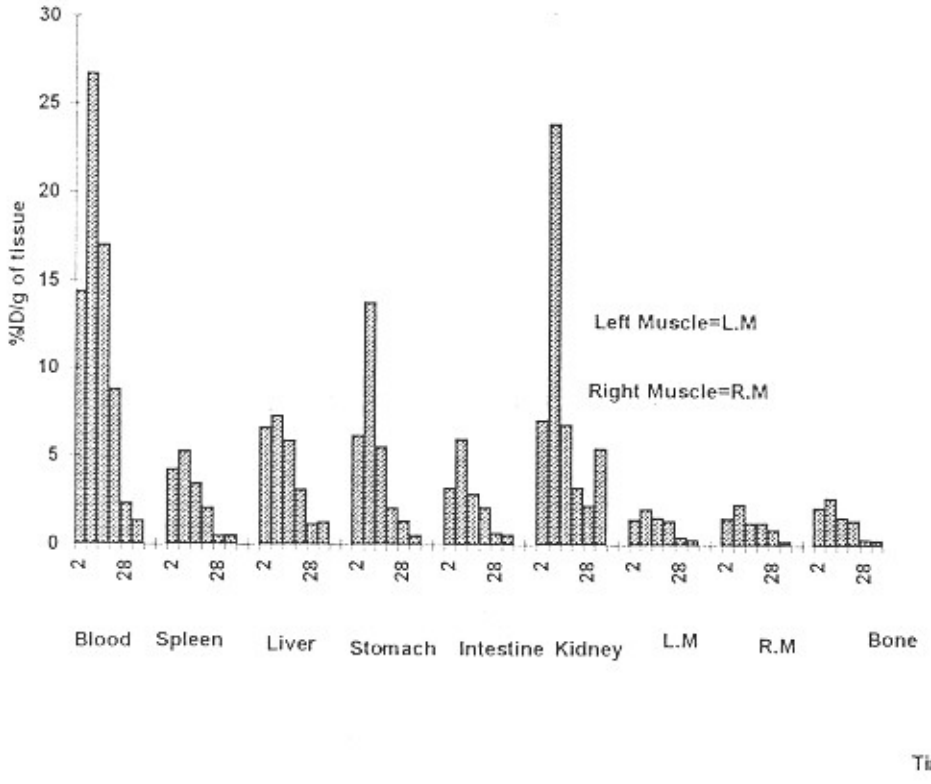
بررسی‌ها نشان داده است که بدنبال تجویز iv آنتی‌بادی یدینه شده با روش‌های متداول بیش از ۵۰٪ اکتیویته در ادرار یافت می‌شود که یا ناشی از ید آزاد و یا اجزاء آنتی‌بادی یدینه می‌باشد. و اثر فوق باعث افزایش اکتیویته در خون و معده و روده‌ها و کلیه‌ها می‌شود. برای کاهش دیدینه شدن آنتی‌بادی در in-vivo و در نتیجه کاهش اکتیویته در بافت‌های سالم تحقیقات وسیعی جهت تغییر روش‌های یدینه کردن صورت گرفته است مثل استفاده از معرف‌هایی که حاوی ید در موقعیت متا یا پارای حلقه آروماتیک خود بوده و در ضمن به راحتی با آنتی‌بادی کونژوگه می‌شوند (۶).

بنابراین اگر روش یدینه کردن آنتی‌بادی تغییر یابد به طوری که دیدینه شدن در in-vivo کاهش یابد در آن صورت اکتیویته خون و معده و کلیه‌ها کاهش یافته و اکتیویته هدف بالا می‌رود. با بهبود نسبت آکتیویته هدف به بافت‌های سالم تصویربرداری مناسبی صورت گرفته و محل التهاب به راحتی توسط آنتی‌بادی‌های یدینه شده تعیین می‌گردد.

جدول ۱ : درصد دز تزریق شده در هر گرم بافت (%ID/g) در دسته‌های ۴تایی موش‌های سالم

در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۲۴، ۲۸ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق 125I-IgG

عضو	۲ ساعت	۴ ساعت	۶ ساعت	۲۴ ساعت	۲۸ ساعت	۴۸ ساعت
خون	۱۴/۴±۴/۴۸	۲۶/۷۰±۴/۳	۱۷±۲/۹۴	۸/۸±۰/۱	۲/۳±۰/۵	۱/۳۲±۰/۷۲
طحال	۴/۲۰±۰/۳۶	۵/۲۳±۰/۷۶	۳/۴±۰/۷۱	۲/۰۳±۰/۵	۰/۴۸±۰/۱۳	۰/۵۲±۰/۱۶
کبد	۶/۶±۱/۱۵	۷/۳±۰/۸	۵/۸۵±۰/۶۸	۳/۱۰±۰/۸۵	۱/۱۶±۰/۵۷	۱/۲۵±۰/۴
معده	۶/۱۳±۰/۹۸	۱۳/۷۷±۴/۸۱	۵/۴۸±۱/۹۵	۲/۰۳±۰/۲۹	۱/۳۴±۰/۳۹	۰/۵۱±۰/۲
روده	۳/۱۵±۱/۱۹	۵/۹۵±۰/۳۵	۲/۸۵±۰/۵	۲/۰۸±۰/۳۷	۰/۶۶±۰/۲۲	۰/۵۳±۰/۱۲
کلیه	۷/۰۵±۰/۵۷	۲۳/۸۵±۳/۸۵	۶/۸±۱/۰۶	۳/۲۰±۰/۲۹	۲/۲±۰/۵۷	۵/۴۲±۰/۱۱
ران چپ	۱/۴۳±۰/۴۵	۲±۰/۵	۱/۵۳±۰/۲۸	۱/۵۳±۰/۰۵	۰/۴۳±۰/۱۸	۰/۲۸±۰/۱
ران راست	۱/۵±۰/۳۱	۲/۳۰±۱/۳۶	۱/۲۵±۰/۱۸	۱/۲۵±۰/۰۵	۰/۸۶±۰/۸۱	۰/۲۲±۰/۰۵
استخوان	۲/۱۰±۰/۵۴	۲/۶۷±۰/۱۹	۱/۵۷±۰/۲۱	۱/۴±۰/۲۵	۰/۳۱±۰/۰۷	۰/۲۸±۰/۰۳

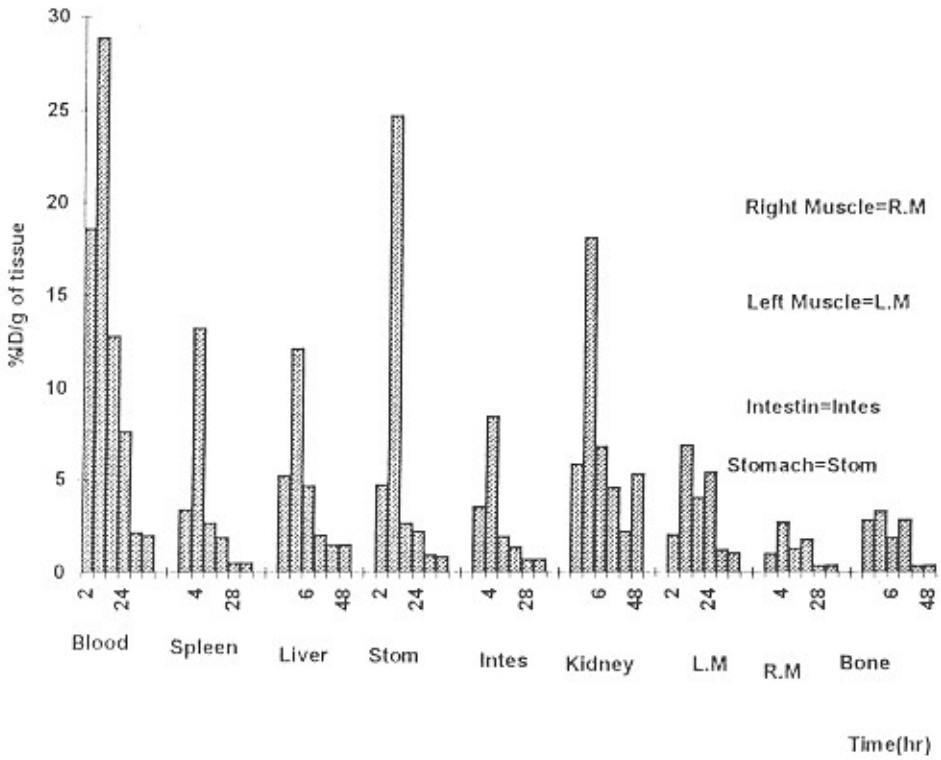


شکل ۱ : نمودار توزیع حیاتی I-125-IgG (%ID/g) در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۲۴، ۲۸ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق اکتیویته در موش‌های سالم

جدول ۲ : درصد دز تزریق شده در هر گرم بافت (%ID/g) در دسته‌های ۴تایی موش‌های ملتهب

در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۲۴، ۲۸ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق I-125-IgG

عضو	۲ ساعت	۴ ساعت	۶ ساعت	۲۴ ساعت	۲۸ ساعت	۴۸ ساعت
خون	۱۸/۵۷±۳/۰۴	۲۸/۸۲±۳/۵۳	۱۲/۷۵±۱/۶۴	۷/۵۸±۰/۸	۲/۱۳±۰/۳۲	۱/۹۳±۰/۶۴
طحال	۳/۳۳±۱/۰۸	۱۳/۱۷±۱/۷۲	۲/۶۳±۰/۶۲	۱/۱۳±۰/۳۳	۰/۴۹±۰/۲۶	۰/۴۹±۰/۲۱
کبد	۵/۱۵±۱/۳۱	۱۲/۱±۲/۷۲	۴/۶±۱/۳۷	۱/۹۷±۰/۷	۱/۴۴±۰/۵۹	۱/۴۷±۰/۱۲
معده	۴/۶۸±۱/۱۱	۲۴/۶۳±۵/۷۵	۲/۶۳±۰/۷	۲/۲±۰/۵۷	۰/۹۲±۰/۴۵	۰/۸۲±۰/۴
روده	۳/۵±۰/۵۴	۸/۴۲±۱/۸۱	۱/۹±۰/۳	۱/۳۲±۰/۳۳	۰/۶۸±۰/۳۲	۰/۶۸±۰/۲۴
کلیه	۵/۸±۰/۷۳	۱۸/۱±۳/۸۲	۶/۸±۱/۷۴	۴/۵۳±۰/۷۸	۲/۱۸±۰/۸۴	۵/۲۷±۱/۸۶
ران چپ	۲±۰/۵۴	۶/۸۷±۰/۶۹	۴±۱/۲۲	۵/۳۵±۰/۶۵	۱/۲±۰/۲۸	۱/۰۳±۰/۶۹
ران راست	۱±۰/۴۸	۲/۶۹±۱/۱۲	۱/۲۵±۰/۵۲	۱/۷۷±۰/۶۸	۰/۳۵±۰/۰۶	۰/۳۹±۰/۱۵
استخوان	۲/۸۱±۰/۲۹	۳/۲۸±۰/۴	۱/۸۳±۰/۳۵	۲/۸۳±۰/۶۶	۰/۳۴±۰/۰۷	۰/۳۶±۰/۱



شکل ۲ : نمودار توزیع حیاتی I-125-IgG (%ID/g) در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۲۴، ۲۸ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق اکتیویته در موش‌های ملتهب

منابع

1 - Clamp J.R and Johnson I, Glycopeoteins, A. Gottschalk, ed. Elsevier, Amsterdam. 1972:612

2 - Wilchek M, Bayer E. Methods in Enzymology, Vol 184, Avidin-Biotin Technology (1).1990:162.

3 - Goldenberg D.M, Larson S.M, Radioimmunodetection in Cancer Identification, J. Nucl. Med. 1992; 33:803-814.

4 - Johnston A, Thorpe R. Immunochemistry in Practice, 1996: 62.

5 - Johnston A, Thorpe R. Immunochemistry in Practice, 1996: 134.

6 - Henkin R.E, Boles M.A, Dillehay G.L, Halama J.R, Karesh S.M, Wagner R.H, Zimmer A.M. Nuclear Medicine, 1996:511.