



تولید و ارزیابی اثرات سلولی رادیوکونژوگه‌های سیتوکسیمب ^{153}Sm -DOTA و سیتوکسیمب ^{177}Lu -DOTA

کمال باوری^{*}، محمد قنادی مراغه

پژوهشکده چرخه سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۸۴۸۶-۱۱۳۶۵، تهران- ایران

*Email: kyavari@aeoi.org.ir

مقاله‌ی فنی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱/۲۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۵/۲

چکیده

رادیوداروهای بر پایه آنتی بادی امروزه در تصویربرداری و رادیوتراپی سرطان به شدت مورد توجه می‌باشند. آنتی بادی منوکلونال سیتوکسیمب به گیرنده فاکتور رشد اپی‌درمال (EGFR) متصل می‌شود و بنابراین امکان ایجاد پروتکل‌های درمانی و تشخیصی علیه این گیرنده را فراهم می‌نماید. در این تحقیق آنتی بادی سیتوکسیمب پس از تخلیص و کونژوگاسیون با DOTA-NHS تازه تهیه شده، با لوتسیم ۱۷۷ و ساماریم کلراید-۱۵۳ نشان‌دار گردید. بازده نشان‌دارسازی و پایداری برون تنی با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک اندازه‌گیری شد. تست‌های سلولی به منظور تعیین رادیویومینواکتیویته و مهار رشد سلول سرطانی انجام شدند. نتایج حاصل نشان داد که بازده نشان‌دارسازی سیتوکسیمب ^{177}Lu -DOTA و سیتوکسیمب ^{153}Sm -DOTA به ترتیب بیش‌تر از $97 \pm 1\%$ و $96 \pm 2\%$ بود. هم‌چنین پایداری برون تنی فراورده‌های نشان‌دار شده در سرم تازه انسانی پس از ۹۶ ساعت به ترتیب $83 \pm 22\%$ و $78 \pm 22\%$ بود. ایمنوراکتیویته برای سیتوکسیمب ^{177}Lu -DOTA برابر $91 \pm 1\%$ و برای سیتوکسیمب ^{153}Sm -DOTA، $66 \pm 1\%$ به دست آمد. هر دو فراورده بسته به زمان و انرژی بتا با شدت‌های مختلف اثر مهار روی رشد سلول‌های سرطانی HT29 کولون داشتند. نتایج تحقیق نشان داد که کمپلکس‌های ایمنوکنژوگه سیتوکسیمب ^{177}Lu -DOTA و سیتوکسیمب ^{153}Sm -DOTA می‌توانند به عنوان رادیوداروی جدید جهت رادیوایمونوتراپی سرطان‌ها در نظر گرفته شوند.

کلیدواژه‌ها: سیتوکسیمب، لوتسیم ۱۷۷، ساماریم ۱۵۳، خلوص رادیوشیمیایی، مهار رشد سلولی

Production and evaluation of cellular effects of ^{153}Sm -DOTA-cetuximab and ^{177}Lu -DOTA-cetuximab radioconjugates

K. Yavari*, M. Ghannadi Maragheh

Nuclear Fuel Cycle Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOL, P.O.Box: 11365-3486, Tehran - Iran

Technical Paper

Received 16.4.2022, Accepted 24.7.2022

Abstract

Antibody-based radiopharmaceuticals are of increasing interest today in cancer imaging and radiotherapy. The cetuximab monoclonal antibody binds to the epidermal growth factor receptor (EGFR) and thus provides therapeutic and diagnostic protocols against this receptor. Following purification and conjugation with freshly prepared DOTA-NHS, the cetuximab antibody was labeled with lutetium 177 and samarium chloride-153. Labeling efficiency and in vitro stability were measured using thin-layer chromatography. Cellular tests were performed to determine radioimmunoactivity in cancer cells. The results showed that the labeling efficiencies of ^{177}Lu -DOTA-cetuximab and ^{153}Sm -DOTA-cetuximab were more than $97 \pm 1\%$ and $96 \pm 2\%$, respectively. Also, the in vitro stability of the labeled products in fresh human serum after 96 hours was $83 \pm 22\%$ and $78 \pm 22\%$, respectively. Immunoreactivity was 91% for ^{177}Lu -DOTA-cetuximab and $66 \pm 1\%$ for ^{153}Sm -DOTA-cetuximab. With different intensities based on time and beta energy, both products inhibited the growth of HT29 colon cancer cells. The results showed that the immunoconjugate complexes of ^{177}Lu -DOTA-cetuximab and ^{153}Sm -DOTA-cetuximab can be considered novel radiopharmaceutical for cancer radioimmunotherapy.

Keywords: Cetuximab, Lutetium 177, Samarium153, Radiochemical purity, Cell growth inhibition



۱. مقدمه

سرطان کولون سومین سرطان شایع و دومین سرطان کشنده در جهان می‌باشد، به طوری که آمار موجود در آمریکا تعداد مبتلایان به این بیماری را در سال ۲۰۰۵ در حدود ۱۴۵۰۰۰ مورد نشان می‌دهد که میزان مرگ و میر در این تعداد افراد در حدود ۵۵۰۰۰ نفر گزارش شده است [۴-۱].

مطالعاتی که در ایران صورت گرفته نشان‌دهنده ابتلای ۱۰ الی ۱۵ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر می‌باشد که آمار نزدیک به کشورهای در حال توسعه می‌باشد و اغلب در مناطق شمال و شمال غرب کشور شایع است [۴]. به طور کلی این بیماری از دهه چهارم به بعد نمود بیشتری پیدا می‌کند و بالاترین میزان شیوع در سنین بالای ۶۰ سال مشاهده می‌شود [۴-۱].

تشخیص و شروع به درمان سریع در مراحل اولیه این بیماری، از عوامل مؤثر در بهبود بیماران مبتلا به سرطان کولون می‌باشد. در طی سال‌های اخیر پیشرفت روزافزونی در درمان سرطان‌ها از جمله سرطان کولون حاصل شده است. یکی از روش‌های مکمل در درمان سرطان، ایمونوتراپی یا استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال است که همراه با شیمی‌درمانی استفاده می‌شود. ایمونوتراپی بر اساس وجود آنتی‌ژن در سطح سلول‌های سرطانی و آنتی‌بادی بر علیه آن استوار است [۵].

در این روش آنتی‌ژن‌های خاص و مهم سلول انتخاب گردیده و آنتی‌بادی علیه آن‌ها ساخته می‌شود. کار آنتی‌بادی کمک به توقف رشد افسار گسیخته سلول‌های سرطانی می‌باشد.

تا به حال چندین آنتی‌ژن توسط سلول‌های سرطانی از جمله سرطان کولون شناسایی شده‌اند که آنتی‌ژن EGFR از مهم‌ترین آن‌ها می‌باشد.

گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR) عضوی از خانواده erbB مربوط به ساختار گیرنده تیروزین کینازها [۶-۸] می‌باشد، که در سلول‌های نرمال به میزان کم‌تری جهت رشد و تکامل سلول‌ها بیان می‌گردد ولی در اکثر تومورهای جامد، از جمله سرطان سینه و تخمدان، سرطان روده بزرگ، سرطان سر و گردن بیش از حد بیان می‌شود و باعث پیشرفت تومور می‌گردد [۹-۱۲]. به این دلایل، EGFR یک کاندیدای جذاب برای درمان‌های هدفمند است [۱۳].

آنتی‌بادی سیتوکسیمب یا Anti-EGFR علیه آنتی‌ژن EGFR ساخته شده و در درمان سرطان‌های با بیان افزایش یافته EGFR از جمله سرطان کولون مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۴، ۱۵].

سیتوکسیمب نیز مانند هر داروی شیمی دیگر عوارض جانبی دارد. از عوارض دارویی آن می‌توان به ایجاد عوارض پوستی از قبیل راش، پسوریازیس، سمیت پوست، اثرات سمی روی ناخن‌ها و چشم، کاهش منیزیم، تب، استفراغ، اسهال، لکوپنی، دردهای شکمی، افزایش فشار خون و ایسکمی‌های قلبی و ... اشاره کرد [۱]. در برخی افراد دارای بیماری‌های زمینه‌ای از جمله بیماران قلبی مصرف آن می‌تواند خطر مرگ را به همراه داشته باشد [۱۵].

یکی از درمان‌های مناسب برای این افراد استفاده از رادیوایمونوتراپی می‌باشد. در این تکنیک یک آنتی‌ژن مناسب سلول سرطانی و آنتی‌بادی علیه آن انتخاب شده و آنتی‌بادی با رادیوایزوتوپ نشان‌دار می‌گردد. آنتی‌بادی نشان‌دار بعد از تزریق و رسیدن به اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن اختصاصی در سلول سرطانی باعث گسیل رادیوایزوتوپ در محل اختصاصی سلول سرطانی می‌گردد [۱۶-۱۸].

رادیونوکلیدهای مختلفی پتانسیل استفاده در رادیوایمونوتراپی را دارند، ولی با در نظر گرفتن خواص فیزیکی و شیمیایی، هزینه‌های جانبی، نیمه‌عمر، دسترسی و تولید آسان مشاهده می‌شود که در مقایسه با ایزوتوپ‌هایی مثل ^{131}I ، و ایتیم ^{90}Y ، رادیونوکلیدهای ^{177}Lu و ^{153}Sm از خواص درمانی و تشخیصی بهتری برخوردار هستند [۱۹-۲۸]. برخی از دلایل انتخاب ^{177}Lu و ^{153}Sm برای تولید رادیوایمونوکونژوگ عبارتند از [۱۹-۲۸]:

- انرژی بتا آن‌ها باعث می‌شود که برای هدف‌دهی سلول‌ها و بافت‌های بیماری‌های خاص مناسب باشند.
- وجود انرژی گاما آن‌ها را برای تصویربرداری مفید می‌سازد.
- نیمه‌عمر: نیمه‌عمر ^{177}Lu روز ۶٫۷ و ^{153}Sm ساعت ۴۶ امکان توزیع گسترده آن‌ها را در بافت‌ها و سلول‌ها امکان‌پذیر می‌سازد.
- ساختار شیمی آن‌ها $+۳$ می‌باشد که در اتصال آن‌ها به کولیگاند نقش مهمی را ایفا می‌کند.
- می‌توانند در نسبت بالایی از اکتیویته ویژه تولید شوند.
- سنگین‌ترین لانتانید هستند اما شعاع یونی کوچک‌تر از ^{23}Y دارند.
- حالت اکسیداسیون $+۳$ آن‌ها بسیار پایدار است.
- با لیگاندهای اهداکننده S، P، O و N از قبیل DTPA و فسفونات به خوبی شلاته می‌شوند.
- با شلاتورها پایداری بالایی را ایجاد می‌کنند.



۵.۲ تهیه کونژوگه سیتوکسیمب-DOTA-NHS
 DOTA-NHS تهیه شده از کمپانی Macrocylic (در نسبت مولی ۵۰) در ۰.۵ میلی لیتر بافر بیکربنات حل گردید. سیتوکسیمب (۵ mg / ۰.۵ mL) در بافر بیکربنات به طور آهسته به محلول DOTA-NHS اضافه و به طور آرام به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق مخلوط گردید. واکنش کونژوگه‌سازی با اضافه کردن بافر آمونیم استات (۰.۲۵ میلی مول و pH= ۵/۵) و سپس سانتریفوژ به اتمام رسید. کونژوگه حاصل با استفاده از همین بافر در ستون اولترافیلتر- ۳۰، ۳ تا ۵ بار شستشو شد تا این‌که غلظت محلول فیلتر شده در بیوفتومتر در طول موج ۲۸۰ nm مساوی صفر گردید. ایمونوکونژوگه حاصل در ۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد.

۶.۲ تهیه سلول‌های سرطانی و محیط کشت مورد نیاز
 رده‌های سلولی HT۲۹ از انستیتو پاستور تهران تهیه گردید و در محیط‌های کشت سلولی RPMI۱۶۴۰ کشت و پاساژ داده شدند.

۷.۲ تعیین میانگین نسبت مولی شلاتور به آنتی‌بادی
 جهت تعیین تعداد گروه‌های شلاتور به ازای هر آنتی‌بادی روش اسپکتروفوتومتری پی‌پین به کار رفت. تعداد شلاتور به ازای هر آنتی‌بادی توسط تیتراسیون کمپلکس YttriumIII arsenazoIII با استفاده از اسپکتروفوتومتری (شیمادزو UV-Vis ۱۲۸۰) مشخص گردید [۲۹].

۸.۲ نشان‌دارسازی با رادیویازوتوپ
 در ویال‌های شیشه‌ای جداگانه ۲-۳ mCi از ^{177}Lu کلراید و ساماریم کلراید در حجم ۲۰-۱۰ میکرولیتر HCl ۰.۲ مولار به ۰.۵ میلی لیتر بافر آمونیم استات اضافه شد، سپس کونژوگه سیتوکسیمب-NHS-DOTA به آن اضافه و به آرامی مخلوط گردید. کمپلکس‌ها در 43°C به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید و در آخر EDTA (۱۰ میلی مول، و در نسبت حجمی ۱ به ۹ حجم نمونه) به کمپلکس‌ها اضافه کرده و به مدت ۱۵ دقیقه دیگر در بن ماری انکوبه گردید. کمپلکس‌های سیتوکسیمب-DOTA- ^{177}Lu و سیتوکسیمب-DOTA- ^{152}Sm حاصل از طریق ستون‌های ژل فیلتراسیون PD۱۰ توسط بافر PBS تخلیص شدند.

در این تحقیق آنتی‌بادی سیتوکسیمب تحت یک سری شرایط بهینه نسبت به مطالعات قبلی با رادیویازوتوپ‌های ^{152}Sm و ^{177}Lu نشان‌دار شده و سپس کنترل کیفی گردیدند. در نهایت اثرات مهار رشد سلولی آن‌ها بر روی سلول‌های سرطانی کولون و مقایسه این اثرات برای اولین بار در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.

۲. روش‌ها

۱.۲ تولید ^{177}Lu

در رآکتور تحقیقاتی تهران (قلب رآکتور و بهترین موقعیت) با پرتوهای نوترونی (γ و n) اکسید لوتسیم ۱۷۶، $^{176}\text{Lu}_2\text{O}_3$ با غنای ۷۲ درصد (خریداری شده از کمپانی TRACE آمریکا با درصد خلوص شیمیایی بیش‌تر از ۹۹٪) تولید شد. پس از پرتوهای کیپسول $^{176}\text{Lu}_2\text{O}_3$ به مدت ۱۴ روز در جریان شار نوترونی $3-4 \times 10^{13} \text{ n/cm}^2$ به مدت ۲ روز سرد شد و سپس در محلول HCl ۰.۲ مولار حل گردید.

۲.۲ تولید ^{152}Sm

^{152}Sm توسط تابش نوترونی اکسید ساماریم $^{152}\text{Sm}_2\text{O}_3$ (با غنای ۶۴ درصد در رآکتور تحقیقاتی تهران با شار نوترونی $5 \times 10^{13} \text{ n/cm}^2$ به مدت ۵ روز تولید شد. محصول پرتوهای شده در HCl ۰.۲ مولار حل گردید و از طریق فیلتر ۰.۲۲ میکرومتر میلی پور تخلیص شده و برای نشان‌دارسازی آماده گردید.

۲.۳ خلوص رادیونوکلیدی ^{177}Lu و ^{152}Sm تولیدی

در بررسی خلوص رادیونوکلیدی آن‌ها به مدت چند روز با استفاده از سیستم آشکارساز HPGe و بتاسنتیلاسیون، ناخالصی ثبت نگردید.

۴.۲ تهیه آنتی‌بادی

محلول سیتوکسیمب (۲ mg/mL) خریداری شده از شرکت Roach با استفاده از اولترافیلتر آمیکون (میلی پور، MWCO؛ ۳۰۰۰۰) شستشو شد. جهت نمک‌زدایی و تعویض بافر، محلول سه بار با بافر کونژوگه (بافر بیکربنات ۰.۲ میلی مول و pH=۹/۲) شستشو و غلظت نهایی آنتی‌بادی ۱۰ mg/mL گردید. تمامی غلظت‌ها در دستگاه بیوفتومتر و در ۲۸۰ نانومتر قرائت گردید.



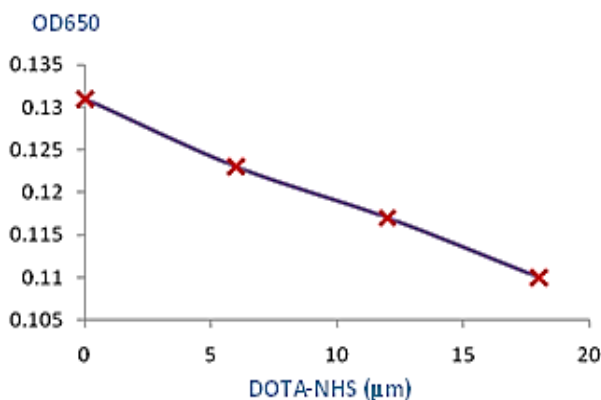
انجام شد. در طول روزهای مختلف انکوباسیون، ۱۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵ mg/ml of PBS) به هر چاهک اضافه شده و به مدت ۴ ساعت در ۳۷ °C انکوبه گردید. سپس پلیت را از انکوباتور برداشته و محیط روی سلول‌ها جمع‌آوری شد. کریستال‌های فورمازان ایجاد شده با افزودن ۲۰۰ میکرولیتر از DMSO (دی متیل سولفاکسید، سیگما) به چاهک‌ها حل گردیدند و بعد از ۱۰ دقیقه جذب نوری آن‌ها در ۵۷۰ nm قرائت شد. برای بررسی اثرات سیتوتوکسیک سیتوکسیمب-¹⁵³Sm-DOTA و سیتوکسیمب-¹⁷⁷Lu-DOTA بر روی سلول‌ها، برای هر رادیودارو چهار گروه سلولی در نظر گرفته شدند: (۱) گروهی که هیچ تیماری بر روی آن‌ها صورت نگرفت. (۲) گروهی که فقط رادیویزوتوپ‌های آزاد ¹⁷⁷Lu و یا ¹⁵³Sm به آن‌ها اضافه شد. (۳) گروهی که فقط سیتوکسیمب به آن‌ها اضافه گردید و (۴) گروهی که سیتوکسیمب-¹⁵³Sm-DOTA و یا سیتوکسیمب-¹⁷⁷Lu-DOTA به آن‌ها اضافه گردید. تمامی گروه‌ها به مدت ۹۶ ساعت از نظر مهار رشد سلولی مورد بررسی قرار گرفتند.

روش آماری: روش آماری به کار رفته در این مطالعه One Way ANOVA، t test و نرم‌افزار SPSS.۱۳ بود. در تمامی آزمایش‌ها مقادیر $p < 0.05$ به عنوان نتیجه یا تفاوت آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد و نتایج به صورت میانگین انحراف معیار بیان گردیده است.

۳. نتایج

۳.۱. تعیین میانگین نسبت مولی شلاتور به آنتی‌بادی

نتایج شکل ۱ نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف DOTA-NHS جذب کمپلکس YttriumIII arsenazoIII را در ۶۵۰ نانومتر کاهش می‌دهد. خطی بودن این منحنی از قانون بیر لامبر پیروی می‌کند و درستی کونژوگاسیون و بهینه بودن غلظت‌های واکنش را نشان می‌دهد.



شکل ۱. منحنی پی‌بین: تعیین تعداد گروه‌های شلاتور به ازای هر آنتی‌بادی.

۲.۹.۲. آزمایشات کنترل کیفی

۱.۹.۲. خلوص رادیوشیمیایی

کارآرایی نشان‌دارسازی رادیوایمونوکونژوگه‌ها با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و نوارهای واتمن شماره ۱ و بافر DTPA (۱۰ میلی مول) به عنوان حلال ارزیابی گردید.

۲.۹.۲. پایداری سیتوکسیمب نشان‌دار با ¹⁵³Sm و ¹⁷⁷Lu

نمونه‌های ۱ میلی لیتری از سرم خون تازه انسانی تهیه گردید. به هر کدام از نمونه‌ها $100 \mu\text{Ci} / 100 \mu\text{g}$ سیتوکسیمب-¹⁷⁷Lu-DOTA و یاسیتوکسیمب ¹⁵³Sm-DOTA اضافه کرده و در ۳۷ °C انکوبه شدند. پایداری نمونه‌ها در ساعت‌های ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون، با استفاده از TLC مشخص گردید. برای بررسی پایداری فرآورده در شرایط ۴ °C، دمای اتاق و بافر فسفات روش مشابه با سرم به کار رفت.

۳.۹.۲. آزمایشات سلولی

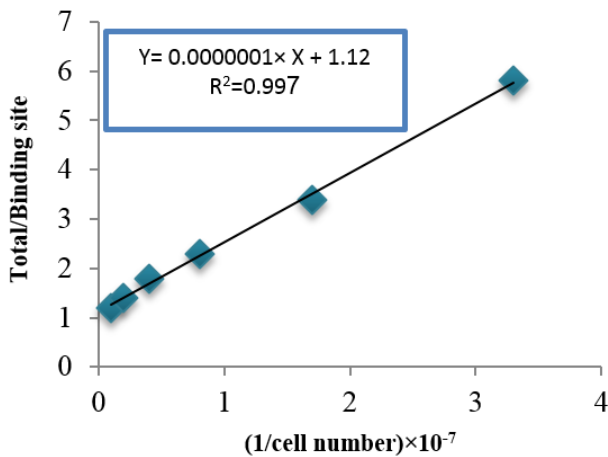
۱.۳.۹.۲. تعیین ایمنوراکتیویته سلولی

با این آزمایش مطمئن می‌شویم که در خلال پروسه نشان‌دارسازی تغییری در توانایی اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن ایجاد می‌شود یا نه. هم‌چنین با این آزمایش میزان اتصال اختصاصی آنتی‌بادی به آنتی‌ژن و در نهایت مفید بودن TRT را تعیین می‌کنیم. روش به کار رفته در این جا Lindmo بود [۳۰]. تعداد 6×10^7 سلول HT۲۹ در یک میلی لیتر محیط کشت سلولی، به پنج میکروتیوب ۲ میلی لیتری بر اساس سرپال رقیق‌سازی ریخته شد و سپس رادیوایمونوکونژوگه ¹⁷⁷Lu-DOTA-Cetuximab به تمامی میکروتیوب‌ها اضافه گردید. پس از ۲ ساعت میکروتیوب‌ها سانتریفوژ و چندین بار با بافر شستشو شدند در نهایت اکتیویته متصل به سلول‌ها قرائت شده و منحنی مربوطه رسم گردید. برای رادیوایمونوکونژوگه ¹⁵³Sm-DOTA-Cetuximab نیز همین روش جداگانه انجام شد.

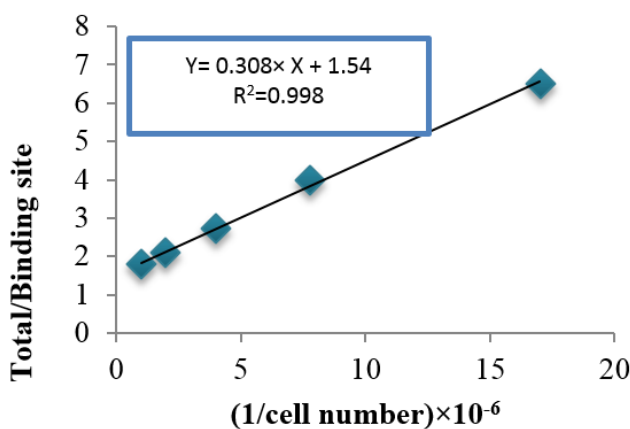
۲.۳.۹.۲. بررسی اثرات مهار رشد سلولی رادیوایمونوکونژوگه‌ها

اساس این تست تشکیل کمپلکس رنگی سلول‌های زنده (به دلیل داشتن آنزیم دهیدروژناز میتوکندریایی) با MTT می‌باشد. برای انجام آزمایش تعداد 4×10^4 سلول زنده به هر کدام از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای (۷ پلیت) حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت اضافه شد و روز بعد عملیات انتقال دارویی طبق پروتکل صورت گرفت. سلول‌های ترانسفکت شده و کنترل به مدت ۴ روز در انکوباتور ۳۷ °C و ۵٪ گاز CO₂ انکوبه شدند و برای هر روز یک پلیت از انکوباتور برداشته و سنجش MTT





شکل ۲. ایمنوراکتیویتهی سیتوکسیمب-^{۱۷۷}Lu-DOTA.



شکل ۳. ایمنوراکتیویتهی سیتوکسیمب-^{۱۵۳}Sm-DOTA.

۲.۴.۳ نتایج آزمایش‌های پرولیفراسیون سلولی (MTT) همان‌طوری‌که در شکل‌های ۴ و ۵ دیده می‌شود ایزوتوپ‌های آزاد ^{۱۷۷}Lu و ^{۱۵۳}Sm اثر قابل توجهی روی رشد سلولی نداشتند ($p > 0.05$). سیتوکسیمب به تنهایی در غلظت‌های بالا تا حدودی اثرات سیتوکسیتهی دارد و بالاترین اثر مهاری آن حدود ۴۰ درصد در روز چهارم و در غلظت ۱۶ میکرومولار به دست آمد. البته اثرات مهار رشد سلولی توسط سیتوکسیمب تنها بهتر از اثرات رادیوایزوتوپ به تنهایی بود. بالاترین اثرات مهار رشد سلولی در استفاده از سیتوکسیمب-^{۱۷۷}Lu مشاهده شد و نتایج مهار رشد سلولی در روزهای ۱، ۲، ۳ و ۴ پس از تیمار به ترتیب ۶۷، ۶۹، ۷۶ و ۷۸ درصد به دست آمد. این نسبت‌ها در مورد سیتوکسیمب-^{۱۵۳}Sm-DOTA به صورت ۶۸، ۷۶، ۶۵ و ۵۵ درصد به دست آمد.

۲.۳ نتایج خلوص رادیوشیمیایی

خلوص رادیوشیمیایی به دست آمده در روش TLC نشان داد که بالاترین اکتیویته در قسمت پایین کاغذ قرار دارد. خلوص رادیوشیمیایی فرآورده‌های سیتوکسیمب-^{۱۷۷}Lu-DOTA و سیتوکسیمب-^{۱۵۳}Sm-DOTA یک ساعت پس از انکوباسیون، به ترتیب $97 \pm 1\%$ و $96 \pm 2\%$ به دست آمد.

۲.۳ پایداری فرآورده‌های سیتوکسیمب-^{۱۷۷}Lu-DOTA و سیتوکسیمب-^{۱۵۳}Sm-DOTA

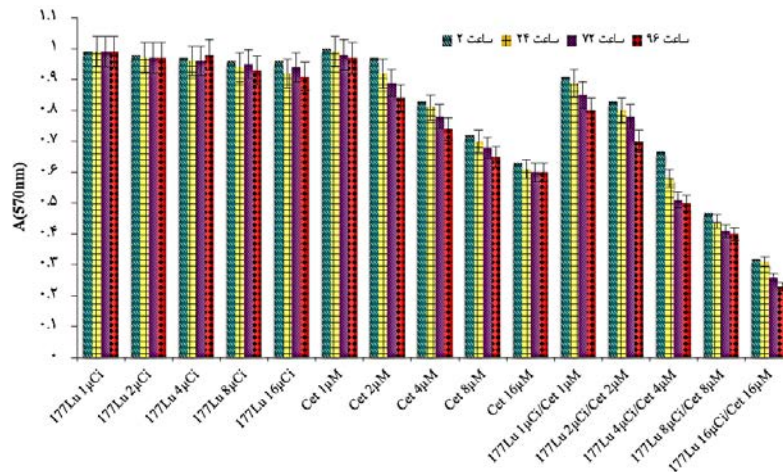
پایداری آنتی‌بادی نشان‌دار شده با انکوباسیون نمونه در دمای اتاق، 4°C و بافر فسفات در زمان‌های مختلف بررسی گردید. فرآورده سیتوکسیمب-^{۱۷۷}Lu-DOTA تا ۹۶ ساعت پس از نشان‌دارسازی، بیش از ۹۷ درصد پایداری داشت. پایداری فرآورده‌ها در شرایط ذکر شده، تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$). هم‌چنین پایداری نمونه در سرم خیلی خوب بود، به طوری که تا ۷۲ ساعت پس از انکوباسیون تفاوت معنی‌داری در مقایسه با پایداری در دیگر شرایط نشان نداد، هر چند که با گذشت زمان اندکی کاهش در پایداری آن مشاهده گردید ($p > 0.05$). به طوری‌که پایداری برون‌تنی فرآورده‌های نشان‌دار شده در سرم تازه انسانی پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون برای سیتوکسیمب-^{۱۷۷}Lu-DOTA و سیتوکسیمب-^{۱۵۳}Sm-DOTA به ترتیب $83 \pm 2\%$ و 78% بود. در مورد فرآورده سیتوکسیمب-^{۱۵۳}Sm-DOTA نتیجه تا حدودی متفاوت به دست آمد: پایداری این فرآورده در سرم بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون تقریباً ۷ الی ۸ درصد کم‌تر از فرآورده نشان‌دار با لوتسیم بود ولی در بقیه شرایط انکوباسیون تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

۴.۳ آزمایش‌های مطالعات سلولی

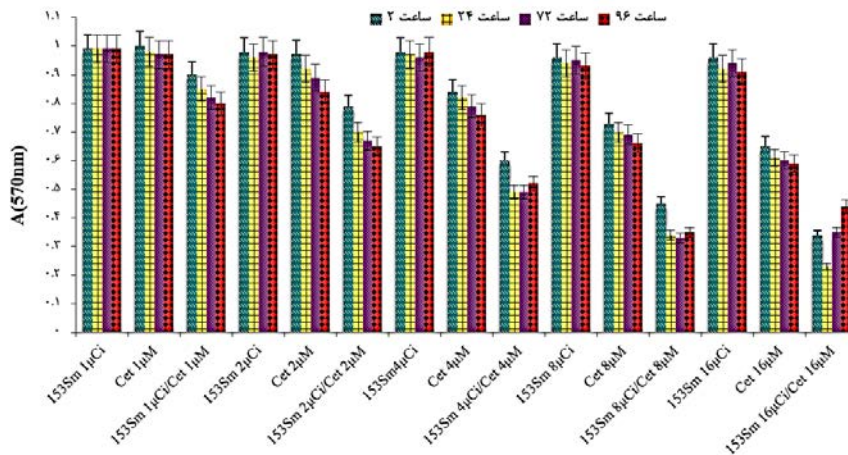
۱.۴.۳ آزمایش ایمنورکتیویتهی

نتیجه آزمایش ایمنورکتیویتهی سیتوکسیمب-^{۱۷۷}Lu-DOTA $91 \pm 1\%$ درصد و برای سیتوکسیمب-^{۱۵۳}Sm-DOTA در حدود $66 \pm 1\%$ به دست آمد (شکل‌های ۲ و ۳).





شکل ۴. بررسی اثرات- سیتوکسیمب ^{177}Lu -DOTA در کنار کنترل‌های cetuximab و ^{177}Lu بر روی پرولیفراسیون سلولی HT۲۹ رده سلول سرطانی کولون در دزها و روزهای مختلف.



شکل ۵. بررسی اثرات- سیتوکسیمب ^{152}Sm -DOTA در کنار کنترل‌های cetuximab و ^{152}Sm بر روی پرولیفراسیون سلولی HT۲۹ رده سلول سرطانی کولون در دزها و روزهای مختلف.

۴. بحث

مقاومت در برابر درمان آنتی‌بادی ضد EGFR استفاده شود. چندین مقاله قبلی نشان می‌دهد که رادیونوکلیدهای درمانی، آنتی‌بادی‌های ضد EGFR نشان‌دار شده با ^{90}Y و ^{177}Lu دارای پتانسیل درمانی برای مدل تومور HNSCC مقاوم به سیتوکسیمب هستند [۳۸، ۳۹]. در این مطالعه از سیتوکسیمب نشان‌دار با لوتسیم و ساماریم بتازا به‌عنوان جایگزین مناسب سیتوکسیمب برای درمان سرطان‌های دارای بیان بیش از حد EGFR استفاده شد. هر دارو قبل از این‌که کاربرد بالینی پیدا کند باید تست‌های برون تنی و کنترل کیفی را طی نماید. در این تحقیق آنتی‌بادی سیتوکسیمب با رادیوایزوتوپ‌های ساماریم و لوتسیم نشان‌دار گردید و پس از کنترل کیفی برای اولین بار اثرات مهار رشد سلولی آن‌ها بر روی سلول‌های سرطانی HT۲۹ سرطان کولون که در سطح خود دارای بیان بیش از حد EGFR هستند بررسی شده و نتایج آن‌ها مقایسه گردید.

سیتوکسیمب به عنوان یک عامل درمانی امیدوارکننده در تومورهای با بیان بیش از حد و یا غیرطبیعی EGFR فعال شده از جمله HNSCC، سرطان کولورکتال متاستاتیک و سرطان ریه سلول غیرکوچک در نظر گرفته می‌شود [۳۱-۳۴]. نشان داده شده است که سیتوکسیمب از تکثیر رده‌های سلولی بدخیم مختلف با بیان بیش از حد EGFR در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری می‌کند و فعالیت ضدتوموری چندین داروی شیمی درمانی یا رادیوتراپی را در مدل‌های پیوند زونگرافت موش افزایش می‌دهد [۳۴-۳۷]. گرچه درمان سیتوکسیمب فواید بالینی داشته است، اما مقاومت درونی و اکتسابی هر دو نتایج بالینی رایج هستند. رویکرد جایگزین اصلاح آنتی‌بادی ضد EGFR برای تحویل مولکول‌های سیتوتوکسیک از جمله سموم، سیتوکین‌ها یا رادیوایزوتوپ‌ها می‌تواند برای غلبه بر



بافر و شرایط واکنش مناسب، انتخاب شلاتور مناسب و قوی به DOTA-NHS به جای شلاتور ضیف p-SCN-Bn-DTPA کار رفته در مطالعه Benedetto و همکارانش باشد [۳۹]. در بررسی که توسط Chakravarty و همکارانش برای نشان‌دارسازی سیتوکسیمب با استفاده از شلاتور DTPA و DOTA استفاده کرد و مشاهده شد که پایداری ترکیب در صورت استفاده از شلاتور DOTA نسبت به DTPA بهتر می‌باشد و نتایج این قسمت از مطالعات ما با یافته‌های مذکور مطابقت داشت [۴۰].

مطالعات سلولی دو فراورده سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA و سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA برای اولین بار روی سلول‌های HT۲۹ سرطان کولون در این مطالعه انجام شد. ابتدا جهت ارزیابی میزان برداشت اختصاصی سلولی و به عبارت بهتر ایمنوراکتیویته سلولی تست Lindmo انجام گرفت. نتیجه آزمایش ایمنوراکتیویته برای سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA $1 \pm 91\%$ و برای سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA در حدود $1 \pm 66\%$ به دست آمد. رادیوایمنوراکتیویته پایین ترکیب ساماریم نسبت به لوتسیم به دلیل اکتیویته ویژه پایین و تمایل کم این ایزوتوپ برای چسبیدن به آنتی‌بادی در مقایسه با لوتسیم می‌تواند باشد.

آزمایش سلولی دیگر، بررسی اثرات مهار رشد سلولی فراورده‌های سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA و سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA در کنار آنتی‌بادی تک و ایزوتوپ‌های آزاد به عنوان کنترل بود. نتایج نشان دادند که فراورده‌های سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA و سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA به سلول‌های سرطانی HT۲۹ وارد شده و رشد آن‌ها را مهار می‌کنند. اثر مهار رادیوایمنوکونژوگه‌ها به مراتب خیلی بیش‌تر از اثرات مهارکنندگی خود سیتوکسیمب تک می‌باشد و به نوعی در ترکیبات سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA و سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA اثرات مهار آنتی‌بادی و ایزوتوپ سینرژیک می‌شود. در مورد سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA روند مهار رشد سلولی از نظر شدت و مدت دوره اندکی با سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA فرق داشت. ترکیب سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA با دارا بودن انرژی بتا بالای ساماریم [۴۲، ۴۳]، نفوذ سلولی بیش‌تر و در نتیجه اثرات سیتوتوکسیتهی بیش‌تری نسبت به ترکیب سیتوکسیمب-NHS- ^{177}Lu -DOTA از خود نشان داد، ولی به دلیل نیمه‌عمر کوتاه ساماریم [۴۱، ۴۲] نسبت به لوتسیم، شدت اثرات سیتوتوکسیتهی سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA بعد از گذشت ۵۰ ساعت از تیمار نسبت به اثرات سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA از نسبت کم‌تری برخوردار بود.

رادیونوکلیدها در رآکتور تحقیقاتی تولید و در بررسی توسط سیستم HPGe و بتاستیلایسیون ناخالصی مشاهده نشد. جهت نشان‌دارسازی، ابتدا سیتوکسیمب تخلیص و دیالیز شده و با DOTA-NHS کونژوگه گردید. جهت بهینه کردن نشان‌دارسازی، محدوده وسیعی از نسبت‌های غلظت مولار آنتی‌بادی به شلاتور مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس روش پی‌پین [۲۹] مشخص شد مولکول آنتی‌بادی در یک نسبت مولی ۱:۱/۳ به طور محکم به شلاتور می‌چسبد. این نسبت مولی به دست آمده و اتصال محکم شلاتور، می‌تواند دلیلی بر بهینه بودن شرایط نشان‌دارسازی از قبیل انتخاب بافر مناسب، تخلیص بهتر آنتی‌بادی، و انتخاب مناسب دما، زمان و دیگر عوامل مؤثر بر کونژوگه‌سازی و نشان‌دارسازی باشد.

کل فرایند نشان‌دارسازی و تولید سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA در حدود ۱ ساعت طول کشید و خلوص رادیوشیمیایی فراورده برای سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA و برای سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA به ترتیب $1 \pm 97\%$ و $2 \pm 96\%$ بود. کمپلکس‌های سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA و سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA در شرایط مختلف از جمله سرم انسانی پایدار بودند و خلوص رادیوشیمیایی بالایی داشتند. این پایداری ممکن است نشان‌دهنده این باشد که ایزوتوپ آزاد وجود ندارد و این نتیجه، ذخیره آن‌ها را مناسب می‌سازد. البته پایداری سیتوکسیمب- ^{153}Sm -DOTA در مقایسه با سیتوکسیمب- ^{177}Lu -DOTA در سرم اندکی پایین بود که دلیل آن هم می‌توانست تمایل کم ساماریم به اتصال برای آنتی‌بادی‌ها، هم‌چنین نیمه‌عمر کم‌تر و اکتیویته ویژه پایین آن نسبت به ترکیب لوتسیم ۱۷۷ باشد [۲۰-۲۸].

از دلایل خلوص رادیوشیمیایی بالا و پایداری خوب فراورده‌های ساخته شده فراهم کردن شرایط بهینه برای انجام واکنش‌ها و به‌خصوص انتخاب مناسب نوع شلاتور به‌کار رفته می‌باشد.

پایداری و خلوص رادیوشیمیایی رادیوکونژوگه‌های تولید شده در این مطالعه، در مقایسه با برخی از مطالعات صورت گرفته بهتر بود. در مطالعه انجام شده توسط Benedetto و همکارانش خلوص رادیوشیمیایی سیتوکسیمب نشان‌دار با لوتسیم ۱۷۷ زیر ۹۵ درصد بود و هم‌چنین پایداری رادیوایمنوکونژوگه در سرم خیلی پایین‌تر بود، به طوری که پایداری سیتوکسیمب نشان‌دار با لوتسیم ۱۷۷ در سرم پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون زیر ۲۵ درصد به‌دست آمد. نتایج بهتر این بخش از تحقیق ما می‌تواند به تخلیص ابتدایی سیتوکسیمب از هر گونه افزودنی‌های مزاحم در کونژوگه‌سازی و نشان‌دارسازی با استفاده از ستون‌های سنتریکون مخصوص تخلیص، بهینه‌سازی pH مناسب و انتخاب



مراجع

1. R. Labianca, et al, *Colo Cancer, Crit Rev Oncol Hematol*, **51**, 145-70 (2004).
2. E.G. Luebeck, S.H. Moolgavkar, *Multistage Carcinogenesis and the incidence of colorectal cancer, Proc Natl Acad Sci USA*, **99**, 15095-100, 15095-100 (2002).
3. C. Waters, *Colorectal cancer: An overview, Pharmaceut J*, **276**, 323-326 (2006).
4. R. Ansari, et al, *Incidence and age distribution of colorectal cancer in Iran: Results of a population-based cancer Registry, Cancer Lett*, **240**, 143-147 (2006).
5. G. Golshani, Y. Zhang, *Advances in immunotherapy for colorectal cancer: a review, Therap Adv Gastroenterol*, **13**, 1-11 (2020).
6. E.S. Kim, F.R. Khuri, R.S. Herbst, *Epidermal growth factor receptor biology (imcc225), Current Opinion in Oncology*, **13(6)**, 506-513 (2001).
7. M.E. Gross, R.L. Shazer, D.B. Agus, *Targeting the HER-kinase axis in cancer, Seminars in Oncology*, **31(1)**, 9-20 (2004).
8. K.E. Matheny, et al, *Inhibition of epidermal growth factor receptor signaling decreases p63 expression in head and neck squamous carcinoma cells, Laryngoscope*, **113(6)**, 936-939 (2003).
9. D.S. Salomon, et al, *Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies, Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **19(3)**, 183-232 (1995).
10. M. Nouri, et al, *Profile of epidermal growth factor receptor (EGFr) expression in human malignancies: effects of exposure to EGF and its biological influence on established human tumour cell lines, International Journal of Molecular Medicine*, **6(4)**, 495-500 (2000).
11. T. Sasaki, K. Hiroki, Y. Yamashita, *Role of Epidermal Growth Factor Receptor in Cancer Metastasis and Microenvironment, BioMed Research International*, 546318 (2013).
12. J. Mendelsohn, J. Baselga, *The EGF receptor family as targets for cancer therapy, Oncogene*, **19**, 6550-6565 (2000).
13. J. Harding, B. Burtneess, *Cetuximab: An epidermal growth factor receptor chemeric human-murine monoclonal antibody, Drugs Today*, **41**, 107-127 (2005).
14. G. Galizia, et al., *Cetuximab, a chimeric human mouse anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody, in the treatment of human colorectal cancer, Oncogene*, **26(25)**, 3654-3660 (2007).
15. M. Fakih, M. Vincent, *MD†Adverse events associated with anti-EGFR therapies for the treatment of metastatic colorectal cancer, Curr Oncol*, **17(Suppl 1)**, S18-S30(2010).
16. R.M. Sharkey, D.M. Goldenberg, *Perspectives on cancer therapy with radiolabeled monoclonal antibodies, J. Nucl. Med*, **46**, 115-127 (2005).

مطالعه مشابه انجام شده توسط Song و همکارانشان با استفاده از سیتوکسیمب نشان‌دار با لوتسیم ۱۷۷ و مس ۶۴ نتایج مشابهی را نشان می‌دهد. در ساعات اولیه تیمار سلول‌ها توسط رادیوداروهای فوق، مهار رشد سلولی توسط مس به دلیل داشتن انرژی بتای بیش‌تر از لوتسیم، بیش‌تر بود ولی با توجه به نیمه‌عمر کم‌تر مس، بعد از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار سلولی، اثرات مهار رشد سلولی پایدار در سلول‌های تیمار شده در سیتوکسیمب نشان‌دار با لوتسیم بیش‌تر دیده شد [۴۳].

میزان مهار رشد سلولی علاوه بر نوع رادیویزوتوپ به کار رفته به نوع سلول مورد مطالعه نیز بستگی دارد، حتی رفتار سلول‌های مختلف یک نوع سرطان نیز در برابر عوامل درمانی یکسان نیست. در مطالعه انجام شده توسط Shabbir مشاهده شد که اثرات مهاری سیتوکسیمب-¹⁷⁷Lu-DOTA روی سلول‌های سرطانی مختلف HCT۱۱۶، HCT۸، و MAD۴۶۸ به ترتیب ۸۰، ۷۸ و ۵۳ درصد می‌باشد [۴۴]. پس علاوه بر عوامل مختلف تأثیرگذار در میزان مهار رشد سلولی، خود نوع سلول نقش بسزایی در مقاومت به درمان ایفا می‌کند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که سلول‌های HT۲۹ به خیلی از موارد شیمی‌درمانی بسیار مقاوم می‌باشند و در این‌جا اثرات سینرژیک رایوایمونوترابی را می‌بینیم که چگونه بر این سد مقاومت سلولی غلبه و میزان مهار شد سلولی را افزایش می‌دهد.

و در نهایت در مطالعات مهار رشد سلولی مشاهده گردید که سیتوکسیمب به تنهایی اثرات مهاری زیادی ندارد و رادیویزوتوپ است که اثرات مهاری زیاد را به آن اضافه می‌کند.

۵. نتیجه‌گیری

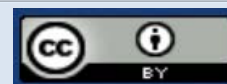
این تحقیق قابلیت نشان‌داری مؤثر و کارآمد سیتوکسیمب را با لوتسیم ۱۷۷ و ساماریم ۱۵۳ نشان داد و مشاهده شد که سیتوکسیمب می‌تواند به عنوان کونژوگه رادیواکتیو مفید جهت استفاده در درمان و تشخیص طیف وسیعی از سلول‌های سرطانی و ناهنجاری‌های دارای افزایش بیان EGFR مطرح باشد. حاصل این تحقیق علاوه بر دستیابی به دانش و فن‌آوری شرایط بهینه تولید رادیودارو، دو محصول رادیودارو به نام‌های سیتوکسیمب-¹⁷⁷Lu-DOTA و سیتوکسیمب-¹⁵³Sm-DOTA می‌باشد. با توجه به این‌که این دو فراورده در تمامی آزمایشات کنترل کیفی و سلولی نتایج خیلی خوبی داشتند در صورت تمایل پزشکان هسته‌ای می‌توانند به عنوان رادیوداروی درمانی در بیماران دچار افزایش بیان EGFR از جمله اکثر سرطان‌های جامد مورد استفاده قرار گیرند. یافته مهم دیگر در این پروژه این است که با در نظر گرفتن نتایج حاصل به نظر می‌رسد که فراورده سیتوکسیمب-¹⁷⁷Lu-DOTA رادیوداروی مناسب‌تری از سیتوکسیمب-¹⁵³Sm-DOTA جهت استفاده در تشخیص و درمان می‌باشد.



17. M.L. Steven, J.A. Carrasquillo, N.K.V. Cheung, *Radioimmunotherapy of human tumours*, **Nature Reviews Cancer**, **15**(6), 347-360 (2015).
18. M.W. Jordan, E.E. Freddy, T.V. Nerissa, *Perspectives on metals-based radioimmunotherapy (RIT): moving forward*, **Theranostics**, **11**(13), 6293-6314 (2021).
19. T.C. Karagiannis, *Comparison of different classes of radionuclides for potential use in radioimmunotherapy*, **Journal of Nuclear Medicine**, **10**(2), 82-88 (2007).
20. D. Zuzana, *Production and chemical processing of ^{177}Lu for nuclear medicine at the Munich research reactor FRM-II*, **Institute for Radiochemistry Technischen Universität Munchen**, (2007).
21. A.H. Brouwers, et al., *Optimization of radioimmunotherapy of renal cell carcinoma: labeling of monoclonal antibody cG250 with ^{131}I , ^{90}Y , ^{177}Lu , or ^{186}Re* , **Journal of Nuclear Medicine**, **45**(2), 327-337 (2004).
22. G.J. Ehrhardt, A.R. Ketrang, L.M. Ayers, *Reactor-produced radionuclides at the University of Missouri Research Reactor*, **Applied Radiation and Isotopes**, **49**(4), 295-297 (1998).
23. L.F. Mausner, S.C. Srivastava, *Selection of radionuclides for radioimmunotherapy*, **Medical Physics**, **20**, 503-509 (1993).
24. S. Lucas, et al, *Monte Carlo Calculation of Radioimmunotherapy with ^{90}Y -, ^{177}Lu -, ^{131}I -, ^{124}I - and ^{188}Re -Nanoobjects: Choice of the Best Radionuclide for Solid Tumour Treatment by Using TCP and NTCP Concepts*, **Computational and Mathematical Methods in Medicine**, Volume 2015, Article ID 284360, P 15.
25. R. Osch, et al, *A Handbook of Nuclear Chemistry: Radiochemistry and Radiopharmaceutical Chemistry in Life Sciences*, **Kluwer Academic Publishers, Amsterdam**, 4 (2003).
26. B.C. Ketcet, et al., *Development of radioimmunotherapeutic and diagnostic antibodies: An inside-out view*, **Nuclear Medicine and Biology**, **34**(7), 757-778 (2007).
27. Ada H. V. Repetto-Llamazares, et al, *Advantage of Lutetium-177 versus Radioiodine Immunoconjugate in Targeted Radionuclide Therapy of B-cell Tumors*, **Anticancer Research July**, **34**(7), 3263-3269 (2014).
28. K. Yavari, M. Ghannadi, *Lutetium ^{177}Lu -Labeled Cetuximab Evaluation for Radioimmunotherapeutic Applications*, **Journal of Ardabil University Medical Sciences**, **12**(2), 204-212 (2012).
29. C.G. Pippin, et al, *Spectrophotometric method for the determination of a bifunctional DTPA ligand in DTPA-monoconal antibody conjugates*, **Bioconjugate Chemistry**, **3**(4), 342-345 (1992).
30. T. Lindmo, et al, *Determination of the immunoreactive fraction of radiolabeled monoclonal antibodies by linear extrapolation to binding at infinite antigen excess*, **The Journal of Immunological Methods**, **372**(1), 77-89 (1984).
31. J.B. Vermorcken, et al, *Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer*, **N. Engl. J. Med.**, **359**, 1116-27 (2008).
32. R. Pirker, et al, *Cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer (FLEX): an open-label randomised phase III trial*, **Lancet**, **373**, 1525-31 (2009).
33. E. Van Cutsem, et al, *Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer*, **N. Engl. J. Med.**, **360**, 1408-17 (2009).
34. J. Mendelsohn, Z. Fan, *Epidermal growth factor receptor family and chemosensitization*, **J. Natl. Cancer Inst.**, **89**, 341-3 (1997).
35. L. Milas, et al, *In vivo enhancement of tumor radioresponse by C225 antiepidermal growth factor receptor antibody*, **Clin Cancer Res**, **6**, 701-8 (2000).
36. M. Krause, et al, *Heterogeneity of tumour response to combined radiotherapy and EGFR inhibitors: differences between antibodies and TK inhibitors*, **Int. J. Radiat. Biol.**, **85**, 934-54 (2009).
37. G. Niu, et al, *Cetuximab-based immunotherapy and radioimmunotherapy of head and neck squamous cell carcinoma*, **Clin Cancer Res**, **16**, 2095-105 (2010).
38. Z. Liu Z, et al, *^{177}Lu -labeled antibodies for EGFR-targeted SPECT/CT imaging and radioimmunotherapy in a preclinical head and neck carcinoma model*, **Mol Pharm**, **11**, 800-7 (2014).
39. R. Benedetto, et al, *Development of radioimmunoconjugate for diagnosis and management of head-and-neck subclinical cancer and colorectal carcinoma Braz*, **J. Pharm Sci**, **53**, e170039 (2017).
40. R. Chakravarty, et al, *$^{90}\text{Y}/^{177}\text{Lu}$ -labelled Cetuximab immunoconjugates: radiochemistry optimization to clinical dose formulation*, **J. Label Compd Radiopharm**, **59**(9), 354-63 (2016).
41. W. Sihver, et al, *Radiolabeled cetuximab conjugates for EGFR targeted cancer diagnostics and therapy*, **Pharmaceuticals**, **7**, 311-338 (2014).
42. E. May, M. Thoennessen, *Discovery of Samarium, Europium, Gadolinium, and Terbium Isotopes*, **Atomic Data and Nuclear Data Tables**, (June 13, 2011).
43. I.H. Song, T.S. Lee, Y.S. Park, *Immuno-PET Imaging and Radioimmunotherapy of ^{64}Cu -/ ^{177}Lu -Labeled Anti-EGFR Antibody in Esophageal Squamous Cell Carcinoma Model*, **J. Nucl. Med.**, **57**, 1105-1111 (2016).
44. R. Shabbir, et al., *EGFR targeting of [^{177}Lu] gold nanoparticles to colorectal and breast tumour cells: Affinity, duration of binding and growth inhibition of Cetuximab-resistant cells*, **Science**, **33**(7), 101573 (2021).

COPYRIGHTS

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.



استناد به این مقاله

کمال یآوری، محمد قنادی مراغه (۱۴۰۲)، تولید و ارزیابی اثرات سلولی رادیوکونژوگه‌های سیتوکسیمب ^{152}Sm -DOTA و سیتوکسیمب ^{177}Lu -DOTA، ۱۰۵، ۱۷۱-۱۷۹

DOI: 10.24200/nst.2022.1107.1734

Url: https://jonsat.nstri.ir/article_1472.html