پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال هجدهم، شماره ۵، پی در پی ۹۵، صفحات ۲۵۰ تا ۲۵۳
آذر و دی ۱۳۹۲

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۴/۲۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۱۰/۱۴

بررسی تأثیر متریزوات بر میزان جذب کمپلکس گالیم ۶۷-متریزوات توسط سلولهای سرطان لنفوئیدی

صادق دهقانی[۱]، بهرام مفید[۲]، محسن اخلاقی[۳]، مجتبی نواب پور[۴]*

۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، گروه رادیوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهیدبهشتی، تهران، ایران
۲- گروه انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهیدبهشتی، تهران، ایران
۳- گروه رادیوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهیدبهشتی، تهران، ایران
۴- گروه رادیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهیدبهشتی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: عدم تعیین موقعیت دقیق تومور و ویژگی هندسی تومورهای لنفوما و کمبود روش مناسب و در دسترس برای بررسی آن، یکی از نگرانی‌ها و دغدغه‌ها در درمان آنها می‌باشد. با توجه به جذب گالیم ۶۷ توسط سلولهای سرطان لنفوئیدی و استفاده از متریزوات برای نشاندار کردن گالیم ۶۷، احتمالاً از این طریق می‌توان موقعیت دقیق تومور را بررسی کرد. لذا در این مطالعه میزان جذب گالیم ۶۷ نشاندار شده با متریزوات توسط سلولهای سرطانی لنفوئیدی در زمانهای مختلف ارزیابی شد.

مواد و روشها: این تحقیق به روش تجربی صورت گرفت. تعداد ۷۵ محیط کشت حاوی سلولهای سرطانی لنفوئیدی به ۵ گروه تقسیم شدند. کمپلکس گالیم ۶۷- متریزوات در سه غلظت ۵۰٪، ۶۰٪ و ۷۵٪، گالیم ۶۷ و متریزوات، هر یک به یکی از گروههای ۱۵تایی محیط کشت اضافه شدند. در زمانهای ۱، ۴ ، ۸ ، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از اضافه نمودن محلول‌ها به محیط کشت، میزان حجم جذب شده آنها توسط سلولها اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده از طریق آزمون‌های آماری آنوا و مقایسه‌های چندگانه، مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: بیشترین میزان جذب کمپلکس گالیم ۶۷- متریزوات و گالیم ۶۷ ، ۴ ساعت پس از اضافه کردن آنها به محیط کشت اتفاق افتاد ($P<0/05$). در بین ۳ غلظت کمپلکس گالیم ۶۷– متریزوات، بیشترین جذب مربوط به غلظت ۵۰٪ بود ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه باند کردن گالیم با متریزوات، تأثیری در عملکرد آن نداشت، احتمال می‌رود که بتوان از آن برای تشخیص دقیق موقعیت تومورهای لنفاوی استفاده نمود. پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ی مشابهی به صورت *in vivo* صورت گیرد و عملکرد ترکیب مورد نظر در آن نیز بررسی شود.

واژگان کلیدی: میزان اکتیویته جذب شده، سلولهای سرطان لنفوئیدی، گالیم ۶۷، متریزوات

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:
Dehghani S, Mofid B, Akhlaghi M, Navabpour M. The effect of metrizoate on the uptake rate of metrizoate-labeled gallium 67 by lymphoid cancer cells. Pejouhandeh 2013;18(5):250-253.

مقدمه

لنفوما شامل گروهی از سرطان‌هاست که سیستم ایمنی بدن را درگیر می‌کند و به طور اولیه، در گره‌های لنفاوی ظاهر می‌شود (۱). این سرطان، یکی از شایعترین سرطان‌ها در بین کودکان می‌باشد (۲). یکی از نگرانی‌ها و دغدغه‌ها در رابطه با درمان تومورهای لنفوما، عدم تعیین موقعیت دقیق تومور و ویژگی هندسی آن توسط روشهای تشخیصی CT و MRI می‌باشد (۳). تشخیص اشتباه در اندازه‌ی تومور، باعث طرح درمان اشتباه و در نتیجه کاهش بازده درمان می‌شود. لذا برای طرح دقیق درمان نیاز به PET اسکن می‌باشد که با توجه به مکانیسم دقیقی که دارد، قادر به تعیین حجم دقیق تومور می‌باشد (۴). در PET اسکن، معمولاً از داروی FDG و نشانگرهای مختلف استفاده می‌شود که این نشانگرها با توجه به نوع تومور و محل آن فرق می‌کنند (۵). ولی به این نکته باید توجه کرد که هزینه‌ی انجام PET اسکن در ایران بسیار

*نویسنده مسؤول مکاتبات: بهرام مفید؛ گروه انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران؛ پست الکترونیک: mofid429@yahoo.com

بالا می‌باشد. احتمالاً می‌توان از داروهای رادیواکتیو برای تعیین موقعیت و حجم دقیق تومور استفاده کرد.

انتقال انتخابی داروهای پزشکی به بافت یا ارگانهای هدف برای انجام تست‌های تشخیصی خاص و درمان، یکی از اهداف مهم مطالعات پزشکی است. برای مثال، در مطالعات زیادی در پزشکی هسته‌ای، انتقال رادیو دارو به ارگان هدف از طریق باند کردن با کیت‌های شیمیایی و آنتی‌بادیهای منوکلونال اجرا می‌شود (۶ و ۷)، یا انتقال رادیونوکلئیدها به سلولهای سرطانی توسط موادی مثل ویتامین B12، بلئومایسین یا اکتینومایسین در رادیوتراپی صورت می‌گیرد (۸ و ۹).

امروزه گالیم ۶۷ به شکل سیترات، بهترین رادیوایزوتوپ برای تعیین موقعیت تومور می‌باشد. بنابراین اسکن گالیم به طور وسیعی برای تصویرگیری کارسینومای ریه، هپاتوما و لنفوما ارزیابی شده است. مکانیسم دقیق تعیین موقعیت دقیق تومور توسط گالیم مشخص نیست. با این وجود، بعضی از مطالعات نشان داده است که انتقال گالیم به سلول با عملکرد لیزوزوم ارتباط دارد (۱۰ و ۱۱).

متریزوات یک ماده کنتراست شامل ید با عدد اتمی ۵۳ می‌باشد که به علت عدد اتمی بالا، به عنوان ماده‌ی حاجب عمل کرده و برای به تصویر کشیدن بافت نرم مناسب می‌باشد. دلیل استفاده از متریزوات این بود که مشخص شود که آیا باند کردن گالیم۶۷ با متریزوات تأثیری در جذب گالیم ۶۷ توسط سلولهای سرطانی لنفوئیدی دارد یا خیر. برای این منظور، متریزوات با گالیم ۶۷ باند شد و انتقال آنها به سلول‌های سرطانی لنفوئیدی مورد مطالعه قرار گرفت. از آنجا که تا کنون مطالعه‌ای در این خصوص انجام نشده بود، بر مبنای تئوری فوق و به منظور تعیین تأثیر متریزوات بر میزان جذب گالیم ۶۷، این تحقیق در سال ۱۳۹۱ در دانشکده‌ی پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. در این مطالعه از سلول‌های سرطان لنفوئیدی (تهیه شده از انستیتو پاستور) استفاده شد. برای بررسی موقعیت و اندازه‌ی دقیق سلول‌های لنفاتیک، از گالیم ۶۷ و متریزوات استفاده شد. گالیم ۶۷ ، یک ماده‌ی رادیواکتیو ساطع کننده‌ی اشعه گاما با انرژی‌های ۹۳، ۱۸۳ و ۳۰۰ کیلوالکترون‌ولت می‌باشد.

اولین قدم در این مطالعه، تولید کمپلکس گالیم ۶۷- متریزوات بود. مقدار ۰/۲۵ میلی‌لیتر گالیم ۶۷ با ۰/۲۵ میلی‌لیتر متریزوات مخلوط شد. سپس محلول به دست آمده با آب مخلوط شد و کمپلکس گالیم ۶۷- متریزوات با غلظت‌های ۵۰، ۶۰ و ۷۵ درصد تهیه شد. سپس سلول‌های مورد نظر در ۷۵ محیط کشت با شرایط یکسان، کشت داده شده و به ۵ گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند. سلول‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با ۵٪ CO_2 و دمای ۳۷ درجه سلسیوس رشد داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت، به مقدار ۵/۱ میلی‌لیتر کمپلکس گالیم ۶۷- متریزوات از هر یک از غلظت‌ها با اکتیویته‌ی ۵۰ میکروکوری (μCi) به ۳ گروه از محیط‌های کشت اضافه شد. به یک گروه فقط ۱/۵ میلی‌لیتر متریزوات و به گروه دیگر، ۱/۵ میلی‌لیتر گالیم ۶۷ با اکتیویته‌ی ۵۰ μCi اضافه شد و سپس در انکوباتور قرار گرفته شدند. هر گروه ۱۵تایی از محیط‌های کشت، به ۵ زیرگروه ۳ تایی تقسیم شدند و برای هر یک از زمان‌های مورد نظر، ۳ محیط کشت از هر یک از گروه‌های ۱۵تایی مورد بررسی قرار گرفتند. میزان حجم محلول جذب شده توسط سلول‌های مورد نظر در فاصله‌های زمانی ۱، ۴ ، ۸ ، ۲۴ و ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری میزان داروی جذب شده، حجم باقی‌مانده، از طریق آسپیره کردن محلول مورد نظر از محیط کشت، اندازه‌گیری و سپس از حجم اولیه کم شد و مقدار حجم جذب شده توسط سلول‌ها به دست آمد. حجم جذب شده‌ی زمینه، با استفاده از محیط کشت بدون سلول تعیین گردید. سپس با حجم آسپیره شده، جمع و میزان حجم دقیق جذب شده توسط سلول‌ها محاسبه شد. با توجه به اینکه درجه‌ی حرارت، رطوبت و کلیه‌ی شرایط فیزیکی و نوع محیط کشت برای کلیه‌ی نمونه‌ها یکسان بود، میزان جذب محلول‌ها توسط محیط کشت نادیده گرفته شد.

میزان جذب در گروه‌های مختلف با آزمون Repeated ANOVA اندازه‌گیری شد و متعاقب آن، مقایسه‌های چندگانه‌ی post hoc انجام گرفت.

یافته‌ها

تأثیر داروها روی ۷۵ نمونه‌ی کشت سلولی در ۵ گروه بررسی شد و در هر یک از زمان‌های ذکر شده، تعداد ۳ نمونه از هر گروه مورد بررسی قرار گرفت. میزان اکتیویته‌ی جذب شده بر حسب زمان‌های پیگیری و گروه‌های مورد مطالعه، در جدول شماره‌ی ۱ ارایه شده است.

نتیجه‌ی آزمون‌های سلولی نشان می‌دهد که اولاً خصوصیت فیزیکوشیمیایی کمپلکس متریزوات-گالیوم ۶۷، شبیه گالیوم ۶۷ است. ثانیاً، در میان ۳ غلظت کمپلکس متریزوات-گالیوم ۶۷، غلظت ۵۰٪ بیش از سایر غلظت‌ها، جذب سلول‌ها شده

است (P<۰/۰۵). ثالثاً، بر اساس اندازه‌گیری میزان اکتیویته‌ی جذب شده در زمان‌های مختلف، بیشترین میزان جذب، ۴ ساعت پس از اضافه کردن کمپلکس گالیوم ۶۷- متریزوات و گالیم ۶۷ مشاهده شد که دارای تفاوت معنی‌داری نسبت به جذب داروهای مورد نظر در زمان‌های دیگر بود (P<۰/۰۵).

بیشترین میزان جذب گالیم ۶۷ نیز ۴ ساعت پس از اضافه کردن گالیم ۶۷ صورت گرفت. قابل ذکر می‌باشد که با اضافه کردن متریزوات به محیط کشت، هیچ‌گونه جذبی توسط سلول و محیط کشت صورت نگرفت و میزان حجم اولیه‌ی اضافه شده با میزان برداشت شده در زمانهای مختلف، یکسان بود.

جدول ۱. میزان حجم اکتیویته‌ی جذب شده بر حسب زمان‌های پیگیری و به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه.

گروه‌ها	زمان‌های پیگیری				
	۱ ساعت	۴ ساعت	۸ ساعت	۲۴ ساعت	۷۲ ساعت
غلظت ۵۰٪ (ml)	۱/۲۳±۰/۰۷۲	۱/۲۹±۰/۱۰	۱/۲۰±۰/۹۸	۱/۲۳±۰/۰۲۶	۱/۲۲±۰/۰۲۶
غلظت ۶۰٪ (ml)	۱/۰۷±۰/۰۲۶	۱/۱۸±۰/۰۳۶	۱/۰۹±۱/۰۱۷	۱/۱۰±۰/۰۲۰	۱/۱۳±۰/۰۴۳
غلظت ۷۵٪ (ml)	۰/۹۲±۰/۱۰	۱/۰۸±۰/۰۶۲	۰/۹۳±۰/۰۵۵	۰/۹۵±۰/۱۵	۰/۹۸±۰/۱۶
حجم گالیم جذب شده (ml)	۱/۲۶±۰/۰۸۷	۱/۳۹±۰/۰۷۲	۱/۱۷±۰/۱۳	۱/۲۶±۰/۰۵۱	۱/۲۵±۰/۰۵۲
حجم متریزوات جذب شده (ml)	۰	۰	۰	۰	۰

بحث

تحقیق حاضر نشان داد که بیشترین میزان جذب، ۴ ساعت پس از اضافه کردن محلول به محیط کشت صورت می‌گیرد و غلظت ۵۰٪ کمپلکس گالیم ۶۷- متریزوات، بیش از غلظت‌های دیگر، در سلول جذب می‌شود. همانطور که در مقدمه اشاره شد، مقاله‌ای در دسترس قرار نگرفت که تأثیر این دو ماده را بر میزان جذب توسط سلول، بررسی کرده تا ما بتوانیم نتایج کار خود را با آن مقایسه کنیم.

هدف از انجام مطالعه حاضر، انتقال کمپلکس گالیم ۶۷- متریزوات به سلول‌های تومور، به منظور مشخص نمودن شکل واقعی و موقعیت دقیق سلول‌های تومور بود. ماده‌ی کنتراست متریزوات توانست یک ترکیب مناسب و با ثبات را با گالیم ۶۷ تشکیل دهد. بنابراین، گالیم به عنوان یک ردیاب مفید برای تشکیل کمپلکس گالیم ۶۷- متریزوات ارزیابی شد. دلیل استفاده از متریزوات این بود که مشخص شود آیا گالیم ۶۷ در صورت باند شدن با مواد مختلف توانایی خود را در ردیابی سلولهای لنفوئیدی از دست می دهد یا خیر. مطالعات قبلی نشان داد گالیم ۶۷ به عنوان بهترین رادیودارو جهت تشخیص و مدیریت بیماران مبتلا به لنفوما می‌باشد. گالیوم، دارای قابلیت جذب بیشتر در سلول‌های نئوپلاسم بوده و این خاصیت برای سلول‌های با منشأ لنفاوی، بیشتر است (۱۲). همان طور که اشاره شد، گرافی‌های تشخیصی مثل رادیوگرافی، CT و MRI، قادر به تشخیص تومورهای زنده در غده‌های لنفاوی یا تعیین اندازه‌ی دقیق تومورها نمی‌باشند که این به علت وجود بافت‌های فیبروزی یا التهابی در اطراف تومور یا بافت‌های نکروزه‌ی باقیمانده از درمان می‌باشد. اما با استفاده از گاما اسپکت و تکنیک‌های توموگرافی که قادر به تصویربرداری از مواد رادیواکتیو می‌باشند، می‌توان این نقص را برطرف کرد (۳).

Zinzani در سال ۱۹۹۰، اسکن گالیم ۶۷ و scan-CT را مورد مقایسه قرار داد و نشان داد در بیماران مبتلا به سرطان لنفومای داخل شکم که کمورادیوتراپی می‌شوند، پس از پایان درمان، از طریق اسکن گالیم ۶۷ بهتر می‌توان میزان باقی‌مانده‌ی تومور را بررسی کرد. وی نتیجه گرفت که بهتر است اسکن گالیم ۶۷ به همراه scan-CT برای بررسی روند درمان استفاده شود (۱۳).

Palumbo در سال ۲۰۰۵، از سیستم مکمل Ga-67 SPECT/CT برای بررسی تومورهای لنفوما استفاده کرد و نشان داد که Ga-67-SPECT به تنهایی ساختار فیزیولوژیک تومور را بررسی می‌کند، در حالی که CT ساختار آناتومیکی تومور را بررسی می‌کند. به این ترتیب، با ادغام این دو روش تصویر برداری می‌توان ساختار فیزیولوژیکی-آناتومیکی تومور را بررسی و موقعیت آن را دقیق‌تر مشخص نمود (۱۴).

Wouter van der Bruggen در سال ۲۰۱۰، در یک مقاله‌ی مروری، Ga-67-citrate را مورد مطالعه قرار داد. بر اساس مطالعات انجام شده مشخص گردید که این کمپلکس، نقش مهمی در شناسایی التهاب‌های عفونی و غیر عفونی دارد، ولی البته دارای ضعف‌های زیادی مثل نیاز به اسکن تأخیری، رزولوشن فضایی پایین، ترشحات روده‌ای، دوز بالا به بیمار و جذب در سایر بافت‌ها می‌باشد که همین امر، باعث کاهش استفاده از این ترکیب شده است (۱۵).

با توجه به اینکه مطالعه‌ی حاضر، در محیط کشت سلولی انجام و جواب مثبت از آن گرفته شد، لازم است مطالعات بیشتری روی حیوان و انسان صورت گیرد و میزان جذب گالیم

۶۷ که با داروهای مختلف باند شده است، بررسی گردد. اگر بتوان با استفاده از گالیم ۶۷، داروهای شیمی درمانی را به داخل تومورهای لنفوئیدی منتقل کرد، می‌توان بازده درمانی را بسیار بالا برد. حتی با استفاده از گالیم ۶۷ می‌توان وضعیت تومورهای باقی‌مانده را که در گرافی‌های تشخیصی به خوبی مشخص نمی‌شود، مورد بررسی قرار داد.

اگرچه نتایج جالب توجهی از این مطالعه به دست آمد ولی باید توجه داشت که مطالعه‌ی حاضر، کاملاً در محیط *in vitro* انجام گرفت، در حالی که برای اجرای روی بیمار نیاز به انجام مطالعات بیشتری در محیط *in vivo* می‌باشد. همچنین، از آنجا که این مطالعه‌ی تجربی برای نخستین بار انجام گرفت، پایایی کار اندازه گرفته نشد. با این وجود در این مطالعه تمهیداتی فراهم گردید که منجر به کسب نتایج قابل توجهی شد. به عنوان مثال، تعداد نمونه‌ها بالا بود و گروه‌ها و زمان‌ها به صورت تصادفی انتخاب شدند. همچنین، در این مطالعه، سوگیری (bios) وجود نداشته و حمایتی صورت نگرفت که به جهت آن، الزام به سوگیری اتفاق بیافتد.

REFERENCES

1. Balentine Dofacep JR. Lymphoma (Hodgkin's Disease and Non-Hodgkin's Lymphoma). September 1, 2013; Available from: http://www.emedicinehealth.com/lymphoma/article_em.htm#lymphoma_hodgkins_disease_and_non-hodgkins_lymphoma_overview.

2. Mousavi SM, Pourfeizi A, Dastgiri S. Childhood cancer in Iran. J Pediatr Hematol Oncol 2010;32(5):376–82.

3. McLaughlin AF, Magee MA, Greenough R, Allman KC, Southee AE, Meikle SR, et al. Current role of gallium scanning in the management of lymphoma. Eur J Nucl Med 1990;16(8–10):755–71.

4. Paulino AC. PET-CT in radiotherapy treatment planning: Saunders; 2008.

5. Paulino AC, Johnstone PA. FDG-PET in radiotherapy treatment planning: Pandora's box? Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004;59(1):4–5.

6. Rubello D, Mazzarotto R, Casara D. The role of technetium-99m methoxyisobutylisonitrile scintigraphy in the planning of therapy and follow-up of patients with differentiated thyroid carcinoma after surgery. Eur J Nucl Med 2000; 27(4):431–40.

7. Eslamy HK, Ziessman HA. Parathyroid scintigraphy in patients with primary hyperparathyroidism: 99mTc Sestamibi SPECT and SPECT/CT1. Radiographics 2008;28(5):1461–76.

8. Whittemore JC, Gionfriddo JR, Steyn PF, Ehrhart E. Indium-111 labeled vitamin B12 imaging of a ciliary adenoma with concurrent grade 2 soft tissue sarcoma of the leg in a Labrador Retriever. Vet Ophthalmol 2004;7(3):209–12.

9. Lilien DL, Jones SE, O'Mara RE, Salmon SE, Durie BGM. A clinical evaluation of indium-111 bleomycin as a tumor-imaging agent. Cancer 1975;35(4):1036–49.

10. Caride VJ, Gottschalk A. Recent advances in cancer diagnosis with nuclear medicine techniques. Cancer 2006; 40(S1):495–9.

11. Bakshi S, Bender M. Use of gallium-67 scanning in the management of lymphoma. J Surg Oncol 1973;5(6):539–49.

12. Draisma A, Maffioli L, Gasparini M, Savelli G, Pauwels E, Bombardieri E. Gallium-67 as a tumor-seeking agent in lymphomas-a review. Tumori 1998;84(4):434.

13. Zinzani PL, Magagnoli M, Franchi R, Zompatori M, Frezza G, Galassi R, et al. Diagnostic role of gallium scanning in the management of lymphoma with mediastinal involvement. Haematologica 1999;84(7):604–7.

14. Palumbo B, Sivolella S, Palumbo I, Liberati AM, Palumbo R. 67Ga-SPECT/CT with a hybrid system in the clinical management of lymphoma. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2005;32(9):1011–7.

15. van der Bruggen W, Bleeker-Rovers CP, Boerman OC, Gotthardt M, Oyen WJ. PET and SPECT in osteomyelitis and prosthetic bone and joint infections: a systematic review. Seminars in Nuclear Medicine. Elsevier; 2010.