بسمه تعالی

سرمقاله

دکتر محمود جدی تهرانی

بحول و قوه الهی، چهارمین شماره ماهنامه آنتی‌بادی منوکلونال با تلاش و پیگیری همکاران گرامی عضو هیئت تحریریه تقدیم همکاران گرامی می‌گردد. در این شماره مقاله مربوط به تکنیک تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال جمع‌بندی شده و خاتمه می‌یابد. همچنین نحوه تولید یکی دیگر از تولیدات مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال یعنی آنتی‌بادی ضد فریتین در فصل دیگری توضیح داده می‌شود. ضمناً مقالات دیگری نیز در ارتباط با آنتی‌بادیهای منوکلونال و درمان و غربالگری سرطانها تقدیم می‌گردد. امید است که مطالب ذکر شده مقبول همکاران گرامی واقع شود.

جای بسی خوشوقتی است که زحمات همکاران ما در مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال بار دیگر به ثمر نشست و از میان تولیدات ارسال شده به آزمایشگاه رفرانس ۳ مورد دیگر موفق به اخذ تأییدیه از آن آزمایشگاه و وزارت محترم بهداشت، درمان و آموزش پزشکی گردید. این اقلام عبارتند از:

۱- آنتی‌بادی منوکلونال موشی برعلیه فریتین انسانی
۲- آنتی‌بادی پلی‌کلونال خرگوشی برعلیه فریتین انسانی
۳- آنتی‌بادی پلی‌کلونال خرگوشی بر علیه ایمونوگلوبولین‌های موشی کونژوگه شده با آنزیم پراکسیداز

محصولات دیگری نیز جهت تأیید ارسال گردیده است که به محض تأیید به اطلاع همکاران گرامی خواهد رسید.

با توجه به توان مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال در تولید آنتی‌بادیهای منوکلونال و پلی‌کلونال و کونژوگاسیون مربوط به آنها، مراکز و شرکتهای دولتی و خصوصی می‌توانند درخواست خود را در زمینه خرید محصولات موجود و یا تولید محصولات جدید به این مرکز منعکس نمایند.

نظر به اینکه ماهنامه آنتی‌بادی منوکلونال در خدمت کلیهٔ همکاران گرامی که در زمینه‌های مربوطه فعالیت دارند می‌باشد، از کلیه علاقه‌مندان دعوت می‌شود برای درج نظرات و مقالات خود در این ماهنامه با ما تماس بگیرند.

و من ا... التوفیق

ماهنامه تخصصی آنتی‌بادی منوکلونال
سال اول، شماره سوم، خرداد ماه ۱۳۸۲

صاحب امتیاز: پژوهشکده ابن سینا
مدیر مسئول: دکتر محمود جدی تهرانی
سر دبیر: دکتر پونه دوکوهکی
شورای علمی نشریه (به ترتیب حروف الفبا):
دکتر محمد باباشمسی، دکتر رضا بهجتی، علی احمد بیات، دکتر محمود جدی تهرانی، د کتر لیلی چمنی، دکتر پونه دوکوهکی، دکتر امیر حسن زرنانی، دکتر محمد رضا صادقی، دکتر علی اکبر صبور یراقی و رویا قدس
مدیر داخلی: شمیسه اسکندری
همکاران اجرایی: پروانه احمدی، مژده مظهری، ناصر رحیمی، ابوالفضل علیزاده
طراحی روی جلد: مونا سراجی
گسترهٔ توزیع: سراسر کشور
ترتیب انتشار: ماهنامه
روش: خبری، آموزشی
این نشریه برای شنیدن هر گونه اظهار نظر، پیشنهاد و انتقاد
سازنده اعلام آمادگی می‌نماید. علاقمندان می‌توانند نقطه نظرات خود را به نشانی زیر ارسال نمایند.
تهران: بزرگراه شهید چمران، دانشگاه شهید بهشتی، انتهای بلوار
تهران: صندوق پستی، ۱۷۷- ۱۹۸۳۵
تلفن: ۲۴۰۲۰۱۱ فاکس: ۲۴۰۳۶۴۱
E-mail: jmab@avesina.ir

تکنیک تولیدآنتی‌بادی منوکلونال

در ادامه مباحث مطرح شده در زمینه تکنیک تولید آنتی‌بادی منوکلونال، در این شماره به منظور پرهیز از اطاله بیش از حد کلام بصورت فشرده به اهم مطالب مربوط به این موضوع پرداخته می‌شود.

۱- کشت سلولی:

کشت ردهٔ سلولهای میلومایی:

جهت تولید آنتی‌بادیهای منوکلونال به نوعی سلول ردهٔمیلومایی موش که قابلیت رشد در آزمایشگاه را داشته باشد ولی خود تولید کنندهٔ آنتی‌بادی نباشد، نیاز است. معروفترین این سلولها SP2/O نام دارد که از منشأ موشهای سفید Balb/c میباشد. از خصوصیات این سلولها این است که قابلیت رشد در محیط حاوی آمینوپترین را ندارند و در این محیط کشت که محیط HAT نامیده می‌شود، می‌میرند ولی در محیط کشت معمولی مثل RPMI-1640 یا DMEM و در مجاورت آنتی‌بیوتیکهای پنی‌سیلین و استرپتومایسین و ۱۰٪ سرم جنین گاو(FCS) براحتی رشد می‌کنند. لذا، قبل از اقدام به عمل فیوژن بایستی این سلولها کشت داده شده و به مقدار کافی تکثیر شوند و درصد زندهٔ (Viability) این سلولها تعیین گردد.

به منظور تعیین درصد زندهٔ سلولهای میلوم، باید پس از کشت این سلول‌ها و تکثیر آنها، این سلولها را به نسبت یک حجم سلول و ۹ حجم محلول رنگ تریپان‌بلو مخلوط کرده و مقداری از این مخلوط را زیر لام هموسیتومتر که برای شمارش سلولی استفاده می‌شود، قرار میدهیم. رنگ تریپان‌بلو یک رنگ حیاتی است که سلولهای زنده آن را جذب نکرده و بی‌رنگ باقی می‌مانند در حالیکه سلولهای مرده آنرا جذب کرده و به رنگ آبی دیده می‌شوند. جهت شمارش سلولی، تعداد سلولهای مرده و زنده را شمارش کرده و درصد سلولهای زنده را در مجموع سلولها محاسبه می‌نمائیم. ترجیحاً جهت انجام فیوژن، بایستی درصد سلولهای زنده بالاتر از ۹۰٪ باشد.

سلولهای مغذی (Feeder Cells):

سلولهای مغذی در واقع ماکروفاژهای صفاقی موش‌های Balb/c هستند. جهت بدست آوردن این سلولها یک موش Balb/c را کشته و پس از بازکردن پوست در شرایط استریل سوراخ کوچکی در ناحیهٔ صفاق آن ایجاد کرده و با پیپت پاستور حدود ۵ میلی‌لیتر محیط کشت بدون سرم را وارد ناحیهٔ صفاقی کرده و پس از چندبار به‌هم‌زدن، سوسپانسیون سلولی را جمع‌آوری می‌نمائیم. این محلول شامل ماکروفاژهای صفاقی است. تعداد ماکروفاژها را شمارش کرده و در هر چاهک پلیت ۹۶ چاهکی، ۵۰ میکرولیتر (حاوی ۵۰۰۰ ماکروفاژ) از این سوسپانسیون سلولی را (غلظت سوسپانسیون سلولی باید ۱۰۰/۰۰۰ در هر میلی‌لیتر باشد) اضافه می‌نمائیم. تهیهٔ لایهٔ سلولهای مغذی یک روز قبل از انجام فیوژن صورت می‌گیرد تا این سلولها بتوانند به مقدار کافی فاکتورهای رشد را تولید کنند. ضمناً وجود هرگونه آلودگی میکروبی، قبل از اضافه کردن سلولهای فیوژن مشخص خواهد شد.

۲- جداسازی سلولهای طحال از موش ایمن شده:

پس از اطمینان از ایمونیزه بودن موش که از طریق آزمون رقت‌های مختلف سرم موش و اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی موجود در سرم آن بر علیه آنتی‌ژن مربوطه انجام می‌گردد، موش را کشته و طحال آن را در شرایط استریل خارج می‌نمائیم. سپس حدود ۵ میلی‌لیتر محیط کشت بدون سرم را با یک سرنگ بداخل طحال تزریق نموده و این کار را با همان محیط کشت چندین مرتبه تکرار می‌کنیم تا کلیه سلولهای طحال خارج شوند. این سوسپانسیون سلولی را چندین مرتبه از داخل سرنگ واجد سوزن عبور میدهیم (با فشار کم) تا سلولها در سوسپانسیون یکنواخت قرار گیرند. سپس سلولها را شمارش می‌نمائیم.

۳- فیوژن سلولی:

جهت انجام فیوژن یا ادغام سلولی، با توجه به تعداد لکوسیت‌های موجود در طحال، سلولهای میلوم و لکوسیتهای طحال را به نسبت ۱:۱۰ در یک لولهٔ ۵۰ میلی‌لیتری مخلوط کرده و ۳ مرتبه با محیط کشت بدون سرم و سانتریفوژ (۵ دقیقه در ۲۰۰۰ دور در دقیقه) شستشو میدهیم. پس از آخرین شستشو و تخلیهٔ مایع رویی، آخرین قطرهٔ محیط کشت را با پیپت پاستور خارج کرده سپس سلولها را تا حد امکان هم میزنیم تا کاملاً یکنواخت شوند. سپس ۰/۸ میلی‌لیتر پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) 1500 را که در انکوباتور ۳۷^{oC} نگهداری نموده‌ایم قطره‌قطره طی مدت یک دقیقه به سلولها اضافه کرده و دائماً سلولها را هم میزنیم. در مرحله بعد ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت بدون سرم ۳۷^{oC} را با آرامی و در مدت ۲-۱ دقیقه به سلولها اضافه می‌کنیم و سپس با محیط بدون سرم ۳۷^{oC} حجم سلولها را به ۵۰

میلی‌لیتر رسانده و مثل قبل سانتریفوژ می‌کنیم. محلول رویی را تخلیه نموده ویک مرتبه دیگر سلولها را با ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت بدون سرم ۳۷^{oC} شستشو میدهیم. پس از خالی نمودن محلول رویی، سلولها را در ۵۰ میلی‌لیتر محیط کامل (حاوی آنتی‌بیوتیکها و FCS) رقیق کرده و با یک سمپلر ۸ شاخه، سوسپانسیون سلولی را در ۵ پلیت ۹۶ چاهکی (۵۰ میکرولیتر در هر چاهک) حاوی سلولهای مغذی توزیع می‌کنیم.

۴- غربالگری سلولهای هیبرید تولید کننده آنتی‌بادی اختصاصی:

پس از گذشت یک روز از کشت سلولهای هیبریدوم به هر یک از چاهکها ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت کامل حاوی (HAT(۲×) اضافه می‌نمائیم. در این حالت آمینوپترین موجود در HAT باعث مرگ سلولهای میلوم SP2/0 می‌شود و سلولهای طحال که فیوز نشده‌اند قدرت تکثیر نداشته و پس از چند روز می‌میرند. در محیط HAT فقط سلولهای هیبریدوم حاصل از فیوژن سلولهای SP2/0 و سلولهای طحال زنده مانده و رشد می‌کنند. این سلولها قدرت رشد و تکثیر خود را از سلولهای SP2/0 و قدرت بقا در محیط HAT را از سلولهای طحال گرفته‌اند. پس از ۲ نوبت تعویض محیط کشت، رشد سلولهای تمامی چاهکها در زیر میکروسکوپ معکوس بررسی و محلول رویی سلولهایی را که به اندازهٔ کافی رشد کرده‌اند از لحاظ وجود آنتی‌بادی اختصاصی بر علیه آنتی‌ژن مورد نظر آزمایش می‌کنیم (معمولاً از روش ELISA برای سنجش تیتر آنتی‌بادی استفاده می‌شود). در صورت وجود چاهک مثبت، سلولهای آن چاهک را با استفاده از روش رقت سلولی (Limiting dilution) کلون می‌نمائیم.

۵- کلونینگ هیبریدهای مولد آنتی‌بادی اختصاصی:

سلولهای چاهکهای مثبت را که حاوی سلولهای مولد آنتی‌بادی اختصاصی علیه آنتی‌ژن مورد نظر هستند، به روشی که قبلاً ذکر شد شمارش می‌نمائیم، سپس در یک پلیت ۹۶ چاهکی کشت سلول این سلولها را به روش ذیل تقسیم می‌نمائیم:

در سه ستون اول پلیت، در هر چاهک ۱۰ سلول در حجم ۵۰ میکرولیتر اضافه می‌کنیم. در چهار ستون بعد، در هر چاهک ۲۰ سلول در حجم ۵۰ میکرولیتر و در ۵ ستون آخر، در هر چاهک یک سلول در همان حجم اضافه می‌کنیم. برای حمایت از رشد سلولها در این غلظت کم در روز قبل از شروع کلونینگ به هر یک از چاهکها ۵۰۰۰ سلول مغذی (مثل قبل) در ۵۰ میکرولیتر محیط کشت اضافه می‌کنیم و یا محلول رویی کشت سلولهای SP2/0 را که به نسبت ۱/۵ رقیق شده‌است به حجم ۵۰ میکرولیتر می‌افزائیم.

سپس اجازه میدهیم که کشت سلولی سلولهای کلون شده ادامه یابد و پس از هفته اول کشت، هر روز تمامی چاهکها را از لحاظ نوع رشد سلولها بررسی می‌کنیم. در شرایطی که فقط یک مجموعه سلولی رشد کرده باشند، آن را یک کلون سلولی می‌نامیم و پس از رشد کافی آن مجموعه، محلول رویی آن را تست می‌نمائیم. در صورت مثبت بودن، سلولهای آن چاهک را مجدداً به روش فوق کلون می‌نمائیم و دوباره اقدام به جدا نمودن کلونهای تکی می‌نمائیم. در صورتی که یک کلون مثبت سلولی منوکلون باشد، کلیهٔ کلونهای منتج از آن باید آنتی‌بادی اختصاصی را تولید کنند و در واقع دلیل نامگذاری آنتی‌بادی منوکلونال برروی آنتی‌بادی حاصل از این روش نیز این است که این آنتی‌بادی از یک منوکلون یا یک کلون خالص سلولی حاصل از رشد یک سلول منفرد بدست آمده است.

۶- نگهداری دراز مدت هیبریدوم‌ها:

پس از دستیابی به یک کلون هیبریدوم خالص باید به اندازهٔ‌کافی از آن ذخیره داشته باشیم. لذا سلول مزبور را به تعداد زیاد تکثیر نموده و اقدام به فریز نمودن آنها جهت نگهداری طولانی مدت می‌نمائیم. برای این‌کار به هر ویال فریز سلولی (Cryotube) حدود ۶ میلیون سلول با درصد سلول زندهٔ بیش از ۹۵٪ در حجم کمتر از ۱۰۰ میکرولیتر اضافه کرده و به آنها یک میلی‌لیتر محلول فریز سلولی اضافه می‌کنیم (محلول فریز سلولی شامل ۷۰٪ محیط کشت، ۲۰٪ FCS و ۱۰٪ دی‌متیل سولفوکسید DMSO می‌باشد). سپس ویالها را طوری بسته‌بندی می‌نمائیم که در $-۷۰^{o}c$ دمای آنها در هر دقیقه حدود یک درجه سانتیگراد تقلیل یابد. پس از یک شب نگهداری در $-۷۰^{o}c$، ویالها را به نیتروژن مایع با دمای $-۱۹۶^{o}c$ منتقل کرده و برای مدتهای طولانی نگهداری می‌نمائیم.

تخلیص فریتین و تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال و منوکلونال ضد آن

دکتر رضا بهجتی اردکانی

فریتین که پروتئین اصلی ذخیره کننده آهن است، نقشی کلیدی در متابولیسم آهن بازی می‌کند. توانایی فریتین در ذخیره آهن نقشی دوگانه شامل مسمومیت‌زدایی آهن و ذخیره آن را به این مولکول می‌دهد. هر مولکول فریتین ۲۴ زیرواحد دارد که با یکدیگر پوششی توخالی را ایجاد می‌کنند. قطر داخلی این پوشش ۸۰-۷۰ آنگستروم است و می‌تواند حداکثر تا ۴۵۰۰ اتم آهن سه ظرفیتی[1] را به صورت ترکیب غیر آلی در خود جای دهد. قطر خارجی این پوشش ۱۳۰-۱۲۰ آنگستروم می‌باشد. زیرواحدهای مولکول فریتین مهره‌داران بر دو نوعند. یکی زنجیره سنگین[2] با وزن مولکولی ۲۱kDa و دیگری زنجیره سبک[3] با وزن مولکولی ۱۹kDa. در پستانداران زنجیره‌های L و H حدوداً ۵۴٪ با هم تشابه دارند در حالی که زنجیره‌های H در حدود ۹۰٪ و زنجیره‌های L درحدود ۸۵٪ با هم تشابه دارند. تعداد زیرواحدهای H و L در فریتین بافت‌های مختلف یک موجود، متفاوت است. به طور مثال در انسان، فریتین عضلات، تیموس و گلبول‌های قرمز خون از ۲۰ زنجیره سنگین و ۴ زنجیره سبک تشکیل شده است. فریتین کبد و طحال دارای ۳-۲ زنجیره سنگین و ۲۲-۲۱ زنجیره سبک می‌باشد و فریتین قلب، مغز و لنفوسیت‌ها بین این‌دو است. فریتین سرم تماماً از زنجیره سبک تشکیل شده است. به علت تشابه بیشتر فریتین کبد و طحال با فریتین سرم و ذخایر بالای فریتین در این دو عضو، از آنها برای استخراج فریتین استفاده می‌شود.

با توجه به ساختار پیچیده مولکول فریتین و وجود باندهای هیدروژنی و پل‌های نمکی متعدد در درون و بین زیرواحدها که باعث پایداری این ماده در برابر حرارت می‌گردد، اساس تخلیص این ماده را حرارت دادن بافت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد تشکیل می‌دهد.

با توجه به اینکه میزان آهن سرم[4] و ظرفیت تام اتصال آهن[5] ممکن است تحت تأثیر اختلالات غیر مرتبط با کمبود آهن (همچون هیپوپروتئینمی، عفونت‌های مزمن، آنمی‌های همولیتیک، هیپوتیروئیدی و بیماری‌های کلیوی) قرار گیرد، فریتین سرم قابل اعتمادترین شاخص ذخایر تام آهن بدن می‌باشد و اندازه‌گیری آن به صورت روتین توسط پزشکان درخواست می‌شود. علاوه بر این فریتین در تهیه آنتی‌بادی‌های منوکلونال و پلی‌کلونال ضد فریتین، استاندارد کیت‌های تشخیص فریتین، حامل مولکول‌های کوچک در ایمونیزاسیون، ایجاد بار منفی بر سطح سلول جهت مطالعه غشاء سلولی و مارکر پروتئینی در میکروسکوپ الکترونی (به علت دانسیته الکترونی بالا) کاربرد دارد. با توجه به کاربرد وسیع فریتین در زمینه‌های تشخیصی و تحقیقاتی و قیمت بالای فریتین عرضه شده توسط شرکتهای خارجی همچون "sigma"، سیستم تخلیص این ماده از کبد گوسفند در مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال طراحی و بهینه‌سازی شد و سپس فریتین از بافت کبد انسان تخلیص گردید.

بدین منظور، ابتدا بافت کبد با دستگاه هموژنایزر، هموژنیزه شده و پس از مخلوط شدن با PBS در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شد. این امر باعث رسوب اکثر پروتئین‌ها می‌شود اما فریتین و تعداد کمی از پروتئین‌های دیگر باقی می‌مانند. سپس با استفاده از روش رسوب‌گیری توسط اثر نمک (سولفات آمونیوم ۵۰٪) فریتین رسوب داده شد و پس از حل نمودن رسوب در آب و دیالیز جهت خارج نمودن سولفات آمونیوم، نمونه روی ستون سفادکس G-200 کروماتوگرافی گردید.

الکتروفورز فراکسیونهای کروماتوگرافی، نشان داد که فریتین بلافاصله پس از خروج حجم فضای مرده،[6] از ستون خارج شده است. به منظور افزایش خلوص فریتین، از کروماتوگرافی چرخشی[7] استفاده گردید. بدینصورت که قسمت خروجی ستون با شلنگ به قسمت ورودی آن متصل گردید تا نمونه پس از خروج از ستون مجدداً وارد ستون شود و روند جداسازی و تخلیص بهبود یابد. بررسی‌های بعدی با استفاده از الکتروفورز روی ژل پلی‌آکریلامید[8] و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره و همچنین مقایسه آن با فریتین انسانی محصول شرکت Diagnostic Biotech نشان داد که فریتین حاصل از این تخلیص کاملاً خالص می‌باشد. (شکل ۱- الف و ب)

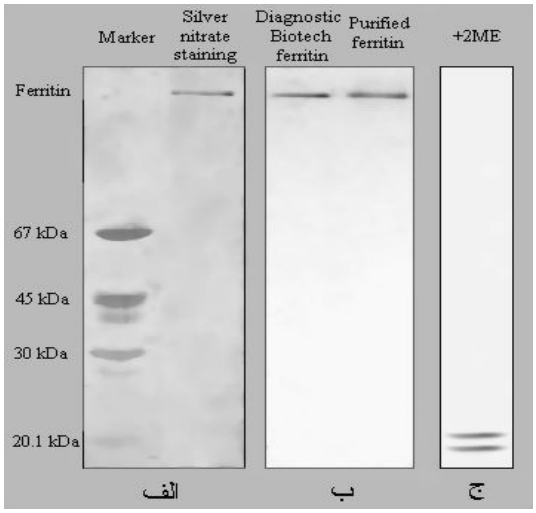
همچنین الکتروفورز فریتین در حضور ۲- مرکاپتو اتانول (2ME) باعث تجزیه فریتین به زیر واحدهایش با وزن‌های مولکولی ۱۹ و ۲۱ کیلودالتون گردید. (شکل ۱-ج)

---

1 - Fe III
2 - H- chain
3 - L- chain
4 - SI
5 - TIBC
6 - Void Volume
7 - Recycling Chromatography
8 - SDS-PAGE

به منظور تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال ضد فریتین، فریتین با ادجوانت کامل فروند (Freund) در تزریق اول و با ادجوانت غیر کامل فروند در بقیه تزریقات به خرگوش، تزریق شد. افزایش تیتر آنتی‌بادی با آزمون الایزا سنجیده شد و آنتی‌بادی سرم خرگوش با استفاده از ستون جذبی با ماتریکس Sepharose 4 B و لیگاند فریتین تخلیص گردید. به منظور تولید آنتی‌بادی منوکلونال ضد فریتین، ابتدا موشهای Balb/c ماده با سن ۱۰-۸ هفته بصورت داخل صفاقی با فریتین تخلیص شده از کبد انسان به میزان ۵۰ میکروگرم به ازاء هر موش، تزریق شد. در تزریق اول از ادجوانت کامل فروند و در تزریق‌های بعدی از ادجوانت ناقص فروند استفاده شد. فاصله تزریق اول و دوم، سه هفته و فواصل تزریقات یادآور دو هفته بود. تیتر آنتی‌بادی بعد از تزریق چهارم در هر موش بررسی و موشی که بالاترین تیتر را داشت به منظور انجام فیوژن انتخاب شد. فیوژن با استفاده از سلول میلومای موش (SP2/0) و PEG 1500 انجام شد. بعد از اضافه کردن محیط انتخابی HAT و رشد و تثبیت هیبریدوماها، با استفاده از آزمون الایزا، کلونهای مثبت انتخاب و پس از چهار نوبت کلونینگ، هیبریدومای پایدار مولد آنتی‌بادی ضد فریتین انتخاب و جهت تولید آنتی‌بادی کشت انبوه داده شد.

آنتی‌بادی با استفاده از ستون پروتئین G تخلیص گردید و تعیین ایزوتیپ با استفاده از پلیت پوشیده شده با آنتی‌بادیهای ضد ایزوتیپ موش، صورت گرفت. اندازه‌گیری افینیتی با آزمون الایزا، نشان‌دهنده افینیتی بالای این آنتی‌بادی بود. ($۲/۳۴ * ۱۰^{۹}$ $M^{-۱}$).



شکل ۱- الکتروفورز فریتین: الف) رنگ‌آمیزی با نیترات نقره
ب) مقایسه فریتین تخلیص شده با فریتین Diagnostic Biotech
ج) الکتروفورز فریتین در حضور 2ME

اولین آنتی‌بادی منوکلونال که به عنوان داروی ضد سرطان تأیید شد

دکتر محمود جدی تهرانی

در تاریخ ۲۶ نوامبر ۱۹۹۷ سازمان دارو و غذای آمریکا (FDA) اولین محصول بیوتکنولوژی را برای درمان سرطان لنفوم غیر هوجکین (NHL) تأیید نمود. این محصول بنام Rituximab یک آنتی‌بادی منوکلونال است که برای درمان بیماران NHL از نوع سلولهای B که به درمان‌های استاندارد پاسخ نداده‌اند، مؤثر واقع می‌شود. ریتوکسی‌ماب، سلولهای B سرطانی را هدف قرار داده و آنها را نابود می‌کند که در نتیجه باعث کوچک شدن تومور با عوارض جانبی کمتر نسبت به اکثر درمانهای ضد سرطان می‌شود.

در کشور آمریکا حدود ۲۴۰/۰۰۰ نفر دچار NHL از نوع سلول B میباشند و حدود ۵۰٪ مبتلا به نوع فولیکولی آن می‌باشند که نهایتاً قابل درمان نمی‌باشد. بیمارانی که این نوع NHL را دارند ممکن است سالها در حالت Remission بمانند ولی در نهایت دچار موارد متعدد عود بیماری می‌شوند.

ریتوکسی ماب یک آنتی‌بادی موشی است که توسط مهندسی ژنتیک به گونه‌ای تغییر یافته که بخشی از آن موشی و بخشی انسانی است و می‌توان آن را در مقادیر زیاد در آزمایشگاه تولید نمود.

از آنجا که فقط سلولهای B مورد حملهٔ ریتوکسی ماب قرار می‌گیرند، عوارض جانبی استفاده از آن کمتر از سایر داروهای شیمی‌درمانی است. چرا که داروهای شیمی‌درمانی به کلیهٔ سلولهای در حال رشد حمله‌ور شده و آنها را از بین می‌برند و در نتیجه عوارض شدیدی ایجاد می‌کنند.

در یک بررسی کلینیکی ۱۶۶ بیمار NHL کاندید درمان با ریتوکسی ماب، اندازهٔ تومورها در ۴۸٪ بیماران حداقل به نصف تقلیل پیدا کرد و ۶٪ از بیماران بهبودی کامل یافتند. تمامی آن بیماران حداقل تحت یک نوع شیمی‌درمانی دیگر قبل از درمان با ریتوکسی‌ماب قرار گرفته بودند.

اثرات مثبت درمان با ریتوکسی ماب به مدت طولانی ادامه یافت بطوری که نیمی از بیمارانی که به درمان پاسخ داده بودند بیش از ۱۱ ماه در حالت Remission باقی ماندند و مطالعات روی این بیماران ادامه دارد.

شایعترین عوارض جانبی استفاده از ریتوکسی ماب در ارتباط با تزریق داخل وریدی آن است و شامل حالت شبه آنفلونزا ضعیف یا متوسط می‌باشد. این علائم اکثراً در تزریق اول اتفاق افتاده و فقط محدود به زمان تزریق میباشد و در تزریقات بعدی شیوع و شدت آن کاهش میابد و برای تزریق آن به بستری شدن نیازی نیست. از آنجا که ریتوکسی ماب علاوه بر سلولهای B سرطانی، سلولهای B نرمال را نیز تخریب می‌کند بیم آن می‌رفت که استفاده از آن باعث ضعف ایمنی و ایجاد عفونت‌های بیش از حد انتظار شود. ولی نتایج استفاده از آن نشان می‌دهد که بیماران درمان شده دچار عفونت بیشتری نسبت به آنچه که انتظار میرفت (با توجه به نوع بیماری و صدمه به سیستم ایمنی بعلت شیمی‌درمانی‌های قبلی) نشدند.

البته پس از استفاده در مقیاس وسیع، عوارض جدی ولی نادری غالباً پس از اولین بار تزریق مشاهده شده است. این عوارض عبارتند از:

۱- مرگ ناگهانی متعاقب مجموعه‌ای از علائم مانند هیپوکسی، فیبریلاسیون بطنی و شوک کاردیوژنیک

۲- سندرم لیز تومور

۳- واکنش شدید مخاطی پوستی

این عوارض سبب شده است که برنامه دقیقی برای تعیین دوز و غلظت داروی مصرفی جهت تزریق نوبت اول برای هر بیمار طراحی شود.

این دارو محصول مشترک دو شرکت IDEC Pharmaceuticals Corporation و Genentech می‌باشد و تحت نام تجاری ریتوکسان (Rituxan) عرضه می‌گردد.

آنتی‌بادی منوکلونال در غربالگری سرطان معده

دکتر پونه دوکوهکی

سرطان معده هفتمین علت مرگ به علت سرطان در ایالات متحده آمریکا و یکی از علل مهم مرگ و میر دنیا خصوصاً کشورهای جهان سوم است. هر ساله حدود ۷۰۰ هزار مورد جدید از سرطان معده تشخیص داده می‌شوند. گاستریت مزمن، آنمی‌پرنیسیوز، پولیپ روده وعفونت هلیکوباکترپیلوری همگی از عوامل خطرساز سرطان معده به شمار می‌روند. تحریک معده با هر یک از این عوامل خطرساز به مدت طولانی سبب ایجاد متاپلازی روده‌ای در بافت معده (Gastric Intestinal Metaplasia - GIM) می‌شود.

بتازگی یک آنتی‌بادی منوکلونال بنام Das-1 معرفی شده است که اختصاصاً با پروتئینی در بافت پوششی روده بنام پروتئین اختصاصی اپی‌تلیوم روده بزرگ (colon Epithelial protein-CEP) واکنش نشان می‌دهد. این آنتی‌بادی اپی‌تلیوم طبیعی سایر مناطق دستگاه گوارش مانند معده را شناسایی نمی‌کند. همچنین این آنتی‌بادی با بافت التهابی مری و معده و نیز سلولهای کارسینوم سنگفرشی squamous cell carcinoma واکنش نشان نمی‌دهد. بنابراین می‌توان از این آنتی‌بادی برای غربالگری و شناسایی بیماران در معرض سرطان معده کمک گرفت. و سپس این بیماران را بوسیله آندوسکوپی‌های متعدد دنبال کرد. بدین ترتیب می‌توان بطور قابل‌توجهی هزینه‌های تشخیصی در سیستم بهداشتی را کاهش داد.

از مزایای این روش غربالگری می‌توان به صرف هزینه کمتر و دقت بیشتر اشاره کرد. زیرا روش‌های روتین تشخیصی مانند آندوسکوپی، عکسبرداری دستگاه گوارش فوقانی و تست خون مخفی در مدفوع یا از محدودیت‌های تشخیصی برخوردارند و یا بسیار گران می‌باشند. دقت تشخیص GIM بوسیله آندوسکوپی بسیار کم است و به سختی و پس از معاینه وسیع امکان پذیر می‌باشد. اشتباهات نمونه‌گیری نیز بسیار شایع است و GIM تنها بوسیله آندوسکوپ‌های بسیار قوی امکان‌پذیر است.

Patent این تکنولوژی در اختیار دانشگاه پزشکی و دندانپزشکی New Jersey است.