بسم الله الرحمن الرحیم

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

خانم سمیرا رسانه رشته فیزیک پزشکی رساله دکتری خود را با عنوان: بررسی تاثیر درمانی کمپلکس آنتی بادی هرسپتین متصل به لوتشیم ۱۷۷ و نانوذرات اکسید آهن و برآورد توزیع اکتیویته در موشهای مبتلا به آدنوکارسینومای پستان در تاریخ ۸۹/۴/۱۳ ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	امضاء
استاد راهنمای اصلی	دکتر حسین رجبی	
استاد راهنمای دوم	دکتر محمد حسین بابایی	
استاد مشاور	دکتر شهرام اخلاق پور	
استادمشاور	دکتر فریبا جوهری	
استاد ناظر	دکتر منیژه مختاری	
استاد ناظر	دکتر بهرام بلوری	
استاد ناظر	دکتر محمد افتخاری	
استاد ناظر و نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر بیژن هاشمی ملایری	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی
دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱ حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲ - انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳ - انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴ - ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵ - این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **سمیرا رسانه** دانشجوی رشته **فیزیک پزشکی** ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۴** مقطع **دکتری** دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم».

امضا سمیرا رسانه

تاریخ ۸۹/۴/ ۱۳

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه [رساله]های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل **رساله دکتری** نگارنده در رشته **فیزیک پزشکی** است که در سال **۱۳۸۹** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **اساتید محترم دکتر رجبی و دکتر بابایی** ، مشاوره **اساتید محترم دکتر اخلاق پور و دکتر جوهری دها** از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰% بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب **سمیرا رسانه** دانشجوی رشته **فیزیک پزشکی** مقطع **دکتری** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی سمیرا رسانه

تاریخ و امضا ۱۳ /۸۹/۴

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

رساله

دوره دکتری تخصصی (Ph.D.) در رشته فیزیک پزشکی

عنوان

بررسی تاثیر درمانی کمپلکس آنتی بادی هرسپتین متصل به لوتشیم ۱۷۷ و نانوذرات اکسید آهن و برآورد توریع اکتیویته در موشهای مبتلا به آدنوکارسینومای پستان

نگارش

سمیرا رسانه

اساتید راهنما

دکتر حسین رجبی

دکتر محمد حسین بابایی

اساتید مشاور

دکتر شهرام اخلاق پور

دکتر فریبا جوهری دها

تابستان ۱۳۸۹

تقدیم به :

پدر بزرگوارم که کلامش اولین معلم و راهنمای زندگیم بود و انگشت تدبیر و اشارتش راه راست زندگی را بر من عیان ساخت.

مادر فداکارم، فرشته عطوفت و مهربانی که همواره شمع سوزان زندگی ام بود. نخوابید تا بیدار باشم، صبور بود تا تحمل را بیاموزم، عشق ورزید تا دوست داشتن را فرا گیرم. اجازه داد تا خودم باشم تشویقم کرد تا حدی که میتوانم باشم.

همسر عزیزم که در خوبی و گذشتش نهایتی نیست. وجودش، همیشه مایه آرامش و مشوقم در کسب علم و دانش بوده است.

برادر و خواهران مهربانم، همراهانی صمیمی که وجودشان باعث دلگرمی ام بود. دوستشان دارم و موفقیتشان را آرزومندم.

خانواده مهربان همسرم، فرشتگانی که دعای خیرشان همواره بدرقه راهم بود.

تشکر و قدردانی

الهی، تو را سپاس که راز دانستن را بر من عیان ساختی و بر تارک ذهنم تاج آموختن و پژوهیدن نهادی و چراغ روشنی بخش عقل را پیش چشمم برافروختی تا ببینم آنچه را در پس پرده اوهام پوشیده بود و بخوانم آنچه که استاد بر لوح دلم می نگاشت تا پاس بدارم گنجینه ای را که معلم بر من سپرد.

از استاد راهنمای بزرگوارم، جناب آقای دکتر رجبی سپاسگزارم همواره با رهنمودهای علمی و اخلاقی ارزشمندشان، مرا در انجام امور این پایان نامه یاری نمودند.

از استاد ارجمندم، جناب آقای دکتر بابایی بسیار قدردانی مینمایم که با سعه صدر از هیچ کمک و مساعدتی در رفع معضلات علمی اینجانب فروگزار نبوده اند.

از استاد ارزشمندم، جناب آقای اخلاق پور کمال تشکر را دارم که با مشاوره های صادقانه و بی دریغ خود مرا در بهبود و برطرف کردن مشکلات پایان نامه رهنمون ساختند.

از استاد فرزانه ام، سرکار خانم دکتر جوهری بسیار سپاسگزارم که در تمامی مراحل انجام این پایان نامه با صبر و حوصله ای مثال زدنی مرا از گنجینه های علمی خود بهره مند ساختند.

از اساتید بزرگوارم، سرکار خانم دکتر مختاری، جناب آقای دکتر هاشمی و جناب آقای دکتر فیروزآبادی که در طول دوره کارشناسی ارشد و دکتری افتخار شاگردی در محضرشان را داشته و همواره مرا از راهنماییها، محبتها و الطاف خود بهره ور ساختند، بسیار سپاسگزارم.

از جناب آقای دکتر شیبانی ریاست محترم پژوهشکده علوم هسته ای پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، به خاطر تمامی کمک ها و مساعدتهای بی دریغشان بسیار تشکر و سپاسگزاری مینمایم.

از همکاری صمیمانه کلیه کارشناسان و اساتید بخش رادیوایزوتوپ پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای که در تمام این مدت از کمکهای صادقانه شان برخوردار بودم خانمها: ذوقی، فروتن، رضایی، طلوعی، پاوندی، کشاورز، میرشجاعی، خوشبخت، محقق پور و آقایان: مزیدی، میرفلاح، شفیعی، نعمتی و دکتر گندم کار بسیار تشکر و قدردانی مینمایم.

چکیده

روشهای درمانی مختلفی برای درمان سرطان پستان و متاستازهای آن ارائه شده است. درمان به روش ایمونوتراپی با آنتی بادی هرسپتین، یکی از موثر ترین روشهای درمانی در سرطان پستان است. هرسپتین با وجود موفقیت بسیار زیاد در درمان قطعی سرطان پستان، در ۷-۱۰ درصد بیماران ایجاد صدمات قلبی می کند. این مسئله زمانی پیچیده تر میشود که بیمار مبتلا به سرطان پستان دچار مشکل قلبی نیز باشد. یکی از مناسبترین روشهای درمانی جایگزین برای این دسته افراد، درمان به روش رادیوایمونوتراپی (نشاندار کردن هرسپتین با یک ماده پرتوزای درمانی) است. در این تحقیق امکان درمان سرطان پستان موش با کمک نشاندار سازی هرسپتین با لوتشیم۱۷۷ مورد بررسی قرار گرفت.

تعیین اکتیویته جذب شده در تومور و سایر ارگانها، مهمترین مسئله به هنگام درمان به روش رادیوایمونوتراپی است. در حال حاضر اینکار با کمک تصاویر سیستم پزشکی هسته ای انجام میشود که به علت پایین بودن قدرت تفکیک این دستگاه، تعیین محدوده اندامها و البته برآورد اکتیویته تجمع یافته در آنها با خطا انجام میشود. استفاده از یک سیستم تصوبربرداری با قدرت تفکیک بالا مثل MRI و اتصال هم زمان ماده پرتوزای درمانی به ماده ای قابل رد یابی با MRI مثل نانوذرات اکسید آهن، ایده ای جدید برای رفع این مشکل است. برای این منظور ترکیب نانوذرات اکسیدآهن-هرسپتین-لوتشیم ساخته شده و بعد از انجام کلیه مراحل کنترل کیفی در شرایط برون تنی(invitro) و درون تنی(invivo)، برای بررسی امکان درمان سرطان پستان موش و تخمین اکتیویته در اندامها با کمک تصویربرداری MRI بکار گرفته شد.

نتایج نشان داد که این کمپلکس توانایی خوبی برای استفاده درمانی در سرطان پستان موش دارد و همچنین با کمک این ترکیب و تصویربرداری MRI تا حدی میتوان برآورد دقیقتری از اکتیویته تجمع یافته در ارگانهای موش نسبت به روشهای معمول بدست آورد.

کلمات کلیدی: رادیوایمونوتراپی، لوتشیم ۱۷۷، هرسپتین، نانوذرات اکسید آهن، پزشکی هسته ای، MRI

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه ۱

۱-۱. سلولهای سرطانی ۲

۱-۲. سرطان پستان و روشهای درمانی آن ۳

۱-۲-۱. پرتو درمانی ۵

۱-۲-۲. ایمونوتراپی ۵

۱-۲-۳-۱. ایمونوهیستوشیمی ۷

۱-۲-۳-۲. روش FISH ۷

۱-۲-۳-۳. آنتی بادی هرسپتین و عوارض دارویی آن ۷

۱-۲-۳. رادیوایمونوتراپی ۱۰

۱-۳. رادیونوکلیدهای درمانی مورد استفاده در نشاندارسازی آنتی بادی ها ۱۲

۱-۳-۱. ید-۱۳۱ ..... ۱۳

۱-۳-۲. ایتریم -۹۰ ..... ۱۴

۱-۳-۳. رنیوم -۱۸۸ ..... ۱۴

۱-۳-۴. ساماریم -۱۵۳ ..... ۱۵

۱-۳-۵. هولمیوم -۱۶۶ ..... ۱۵

۱-۳-۶. لوتشیم -۱۷۷ ..... ۱۵

۱-۴. برآورد اکتیویته در درمان با رادیونوکلیدها ۱۶

۱-۵. مواد کنتراست زا در MRI ۱۸

۱-۵-۱. مگنویست ۲۱

۱-۵-۲. نانوذرات سوپرپارامغناطیس اکسید آهن ۲۲

۱-۶. بیان مسئله ۲۳

۱ -۷. سوالات اصلی تحقیق ۲۴
۱ -۸. اهداف..... ۲۵
۱ -۹. فرضیه تحقیق ۲۵
فصل دوم : مروری بر مطالعات گذشته..... ۲۶
فصل سوم: مواد و روشها.....۳۸
۳ -۱. وسایل و دستگاهها ۳۹
۳ -۲.نرم افزار..... ..... ۴۱
۳ -۳.مواد لازم.... ..... ۴۳
۳ -۴.تهیه محلولها ۴۵
۳ -۵. تعیین غلظت آهن موجود در ترکیب به روش رنگ سنجی..... ۴۶
۳ -۶. تعیین غلظت پروتئین به روش لوری ۴۷
۳ -۷. تعیین غلظت DOTA موجود در ترکیب به روش رنگ سنجی ۴۷
۳ -۸. روش MTT اسی ۴۸
۳ -۹. تعیین غلظت آهن موجود در بافتها به روش رنگ سنجی ۴۹
۳ -۱۰. تهیه موش BALB/c و القاء تومور پستان..... ۴۹
۳ -۱۱. روش ساخت کمپلکس نانوذرات اکسید آهن -هرسپتین -لوتشیم ۱۷۷ ..... ۵۰
۳ -۱۱ -۱. سنتر نانو ذرات اکسید آهن روکش شده با دکستران و انجام مراحل کنترل کیفی آن ۵۱
۳ -۱۱ -۱ -۱. ساخت نانو ذرات اکسید آهن روکش شده با دکستران ۵۱
۳ -۱۱ -۱ -۲. تعین خصوصیات نانوذرات اکسید آهن ۵۲
۳ -۱۱ -۱ -۳. پایدارسازی نانوذرات اکسید آهن ۵۲
۳ -۱۱ -۱ -۴. بررسی اثر سمیت سلولی نانوذرات اکسید آهن..... ۵۲
۳ -۱۱ -۱ -۵. تعیین شرایط مناسب تصویربرداری MRI از موش ۵۳
۳ -۱۱ -۲. اتصال نانوذرات اکسید آهن به آنتی بادی هرسپتین و انجام کلیه مراحل کنترل کیفی آن ۵۴

۳ -۱۱ -۲ -۱. ساخت کمپلکس هرسپتین -نانوذرات اکسید آهن ۵۴
۳ -۱۱ -۲ -۲. تعیین بازده نشاندارسازی ۵۶
۳ -۱۱ -۲ -۳. سنجش پایداری هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن ۵۶
۳ -۱۱ -۲ -۴. بررسی سمیت و اتصال سلولی هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن ۵۶
۳ -۱۱ -۲ -۵. بررسی اتصال سلولی هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن توسط سلولها و مقایسه کنتراست ایجاد شده در تصاویر MRI ۵۷
۳ -۱۱ -۲ -۶. بررسی توزیع حیاتی هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن در موش سالم با تصویربرداری MRI ۵۷
۳ -۱۱ -۲ -۷. بررسی توزیع حیاتی هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن در موش توموری با استخراج اندامها ۵۸
۳ -۱۱ -۲ -۸. بررسی توزیع حیاتی هرسپتین -نانوذرات اکسید آهن در موش توموری با کمک تصویربرداری MRI ۵۸
۳ -۱۱ -۳. نشاندارسازی آنتی بادی هرسپتین با لوتشیم و انجام مراحل کنترل کیفی آن ۵۹
۳ -۱۱ -۳ ۱. اتصال شلاتور DOTA به هرسپتین ۵۹
۳ -۱۱ -۳ ۲. نشاندار سازی هرسپتین متصل به DOTA با لوتشیم ۶۰
۳ -۱۱ -۳ ۳. تعیین بازده نشاندارسازی هرسپتین -لوتشیم ۶۱
۳ -۱۱ -۳ ۴. بررسی پایداری هرسپتین -لوتشیم در بافر فسفات و سرم خون ۶۱
۳ -۱۱ -۳ ۵. تعیین ایمونوراکتیویته هرسپتین -لوتشیم ۶۲
۳ -۱۱ -۳ ۶. بررسی پایداری هرسپتین -لوتشیم در موشهای سالم ۶۲
۳ -۱۱ -۳ ۷. بررسی توزیع حیاتی هرسپتین -لوتشیم در موش توموری ۶۳
۳ -۱۱ -۳ ۸. بررسی توزیع حیاتی هرسپتین -لوتشیم با کمک تصاویر دوربین گاما ۶۳
۳ -۱۱ -۴ -۱. ساخت کمپلکس نانوذرات اکسید آهن - هرسپتین –لوتشیم ۶۴
۳ -۱۱ -۴ -۲. تعیین بازده نشاندارسازی کمپلکس نهایی ۶۵
۳ -۱۱ -۴ -۳. بررسی پایداری کمپلکس در بافر فسفات و سرم خون ۶۵

۳ -۱۱ -۴ -۴. تعیین ایمونوراکتیویته ۶۵
۳ -۱۱ -۴ -۵. بررسی پایداری کمپلکس نهایی در موش سالم..... ۶۵
۳ -۱۱ -۴ -۶. برآورد اکتیویته تجمع یافته در بدن موش توموری با کمک کمپلکس نهایی به روش استخراج بافت..... ۶۶
۳ -۱۱ -۴ -۷. برآورد اکتیویته تجمع یافته در بدن موش توموری با کمک کمپلکس نهایی به روش تصویربرداری پزشکی هسته ای..... ۶۶
۳ -۱۱ -۴ -۸. برآورد اکتیویته تجمع یافته در بدن موش توموری با کمک کمپلکس نهایی به روش تصویربرداری MRI..... ۶۷
۳ -۱۲. بررسی اثر درمانی کمپلکس بر روی سلولهای سرطان پستان..... ۶۷
۳ -۱۳. بررسی اثر درمانی کمپلکس در موشهای مبتلا به تومور پستان ۶۹
۳ -۱۴. برآورد دوز جذب شده در گروه هرسپتین -لوتشیم ۷۱
فصل چهارم: نتایج و یافته ها..... ۷۲
۴ -۱. سنتر نانو ذرات اکسید آهن روکش شده با دکستران و انجام مراحل کنترل کیفی آن ۷۳
۴ -۱ -۱. تعین خصوصیات نانوذرات اکسید آهن ۷۳
۴ -۱ -۲. بررسی میزان پایداری نانوذرات اکسید آهن در بافر سیترات ۷۵
۴ -۱ -۳. بررسی میزان سمیت سلولی نانوذرات اکسید آهن ۷۶
۴ -۱ -۴. شرایط مناسب تصویربرداری از موش با کمک MRI..... ۷۶
۴ -۲.اتصال نانوذرات اکسید آهن به آنتی بادی هرسپتین و انجام کلیه مراحل کنترل کیفی آن..... ۷۸
۴ -۲ -۱. تعیین نسبت مولی آهن به هرسپتین درکمپلکس هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن ۷۸
۴ -۲ -۲. سنجش پایداری هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن در بافر فسفات ۷۸
۴ -۲ -۳. بررسی سمیت و اتصال سلولی هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن..... ۷۹
۴ -۲ -۴. بررسی اتصال سلولی هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن توسط سلولها و مقایسه کنتراست ایجاد شده در تصاویرMRI..... ۸۲

۴-۲-۵. بررسی توزیع حیاتی هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن در موش سالم Bulb/c ۸۳
۴-۲-۶. بررسی توزیع حیاتی هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن در موش توموری با استخراج اندامها ۸۵
۴-۲-۷. بررسی توزیع حیاتی هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن در موش توموری با کمک تصویربرداری MRI ۸۶
۴-۳.نشاندارسازی آنتی بادی هرسپتین با لوتشیم و انجام مراحل کنترل کیفی آن ۸۸
۴-۳-۱. تعیین بازده نشاندارسازی هرسپتین -لوتشیم ۸۸
۴-۳-۲. بررسی پایداری هرسپتین -لوتشیم در بافر فسفات و سرم خون ۸۹
۴-۳-۳. تعیین ایمونوراکتیویته هرسپتین -لوتشیم ۸۹
۴-۳-۴. بررسی پایداری هرسپتین -لوتشیم در موشهای سالم ۹۰
۴-۳-۵. بررسی توزیع حیاتی هرسپتین -لوتشیم در موش توموری ۹۱
۴-۳-۶. بررسی توزیع حیاتی هرسپتین -لوتشیم با کمک تصاویر دوربین گاما ۹۱
۴-۴.ساخت کمپلکس نانوذرات اکسید آهن -هرسپتین–لوتشیم و انجام مراحل کنترل کیفی آن ۹۳
۴-۴-۱. تعیین بازده نشاندارسازی کمپلکس نهایی ۹۳
۴-۴-۲. بررسی پایداری کمپلکس در بافر فسفات و سرم خون ۹۳
۴-۴-۳. تعیین ایمونوراکتیویته ۹۴
۴-۴-۴. تعیین غلظت نانوذرات اکسید آهن، آنتی بادی و اکتیویته موجود در کمپلکس ۹۴
۴-۴-۵. تزریق کمپلکس نهایی به موش سالم و بررسی میزان پایداری ۹۴
۴-۴-۶. برآورد اکتیویته تجمع یافته در ارگانهای موش توموری با کمک کمپلکس نهایی به روش استخراج بافت ۹۶
۴-۴-۷. برآورد اکتیویته تجمع یافته در ارگانهای موش توموری با کمک کمپلکس نهایی به روش تصویربرداری پزشکی هسته ای ۹۷
۴-۴-۸. بررسی توزیع حیاتی کمپلکس نهایی با کمک تصویربرداری MRI در موشهای مبتلا به تومور پستان ۹۸

۴ -۵. بررسی اثر درمانی کمپلکس در سلولهای سرطان پستان ۱۰۱
۴ -۶. بررسی اثر درمانی کمپلکس در موشهای مبتلا به تومور پستان ۱۰۶

فصل پنجم: بحث، نتیجه گیری و پیشنهادها ۱۱۴
۵ ۱. سنتز نانو ذرات اکسید آهن روکش شده با دکستران و انجام مراحل کنترل کیفی آن ۱۱۵
۵ ۲. اتصال نانوذرات اکسید آهن به آنتی بادی هرسپتین و انجام کلیه مراحل کنترل کیفی آن ۱۱۷
۵ ۳. نشاندارسازی آنتی بادی هرسپتین با لوتشیم و انجام مراحل کنترل کیفی آن ۱۲۰
۵ ۴. ساخت کمپلکس نانوذرات اکسید آهن -هرسپتین–لوتشیم و انجام مراحل کنترل کیفی آن ۱۲۲
۵ ۵. برآورد اکتیویته در بدن موش مبتلا به تومور ۱۲۳
۵ ۶. بررسی اثر درمانی کمپلکس در سلولهای سرطان پستان ۱۲۴
۵ ۷. بررسی اثر درمانی کمپلکس در موشهای مبتلا به تومور پستان ۱۲۶
فهرست منابع ۱۳۱
ضمائم ۱۴۲
چکیده انگلیسی ۱۵۴

فهرست جداول

جدول۱ -۱. خصوصیات رادیونوکلوییدهای درمانی رایج در پزشکی هسته ای مناسب برای استفاده در رادیوایمونوتراپی ۱۳
جدول۳ -۱. تعداد نمونه های لازم برای انجام آزمایشات مربوط به کمپلکس نهایی ۷۱
جدول۴ -۱. میزان شمارش تومور و کبد نسبت به شمارش زمینه در زمانهای تصویربرداری ۹۲

جدول۴ -۲. مقایسه اکتیویته و آهن در تومور نسبت به خون و کبد با کمک کمپلکس هرسپتین -لوتشیم، نانوذرات اکسید آهن -هرسپتین -لوتشیم و نانوذرات اکسید آهن - هرسپتین در زمانهای مختلف ۹۶
جدول۴ -۳. برآورد اکتیویته موجود درکبد و تومور به سه روش مختلف و مقایسه آنها ۱۰۰
جدول۴ -۴. محاسبه نتایج مربوط به برآورد دوز جذبی بر واحد MBq اکتیویته ۱۱۰
جدول الف -۱. درصد اکتیویته بر گرم بافت برای موشهای توموری طی ۷ روز پس از تزریق کمپلکس نانوذرات اکسید آهن -هرسپتین -لوتشیم. مقادیر بصورت میانگین±انحراف معیار نمایش داده شده است..... ۱۴۳
جدول الف -۲. درصد بقای سلولهای SKBR3 بعد از تاثیر غلظتهای مختلف از ^{177}Lu تا ۷ روز. مقادیر بصورت میانگین± انحراف معیار نمایش داده شده است..... ۱۴۴
جدول الف -۳. درصد بقای سلولهای SKBR3 بعد از تاثیر غلظتهای مختلف از ^{176}Lu تا ۷ روز. مقادیر بصورت میانگین± انحراف معیار نمایش داده شده است..... ۱۴۵
جدول الف -۴. درصد بقای سلولهای SKBR3 بعد از تاثیر غلظتهای مختلف از نانوذرات اکسید آهن تا ۷ روز. مقادیر بصورت میانگین± انحراف معیار نمایش داده شده است..... ۱۴۶
جدول الف ۵. درصد بقای سلولهای SKBR3 بعد از تاثیر غلظتهای مختلف از هرسپتین تا ۷ روز. مقادیر بصورت میانگین± انحراف معیار نمایش داده شده است..... ۱۴۷
جدول الف -۶. درصد بقای سلولهای SKBR3 بعد از تاثیر غلظتهای مختلف از هرسپتین -نانوذرات اکسید آهن تا ۷ روز. مقادیر بصورت میانگین± انحراف معیار نمایش داده شده است..... ۱۴۸
جدول الف -۷. درصد بقای سلولهای SKBR3 بعد از تاثیر غلظتهای مختلف از هرسپتین -لوتشیم تا ۷ روز. مقادیر بصورت میانگین± انحراف معیار نمایش داده شده است..... ۱۴۹
جدول الف -۸. درصد بقای سلولهای SKBR3 بعد از تاثیر غلظتهای مختلف از نانوذرات اکسید آهن - هرسپتین -لوتشیم تا ۷ روز. مقادیر بصورت میانگین± انحراف معیار نمایش داده شده است. ۱۵۰

جدول الف ۹. میانگین درصد حجم نسبی تومورها در گروههای لوتشیم۱۷۷، لوتشیم ۱۷۶، نانوذرات اکسید آهن و هرسپتین در مقایسه با گروه کنترل. مقادیر بصورت میانگین± انحراف معیار نمایش داده شده است..... ۱۵۱

جدول الف ۱۰. میانگین درصد حجم نسبی تومورها در گروههای هرسپتین -نانوذرات اکسید آهن، هرسپتین -لوتشیم -۲۰۰، هرسپتین -لوتشیم -۴۰۰ و هرسپتین -لوتشیم - نانوذرات اکسید آهن. مقادیر بصورت میانگین± انحراف معیار نمایش داده شده است..... ۱۵۲

فهرست شکل‌ها

شکل۱-۱. عملکرد هرسپتین در بلوک کردن ژنهای HER2 در سطح سلولهای سرطانی[۱۹] ۸

شکل۱-۲. مقایسه عملکرد رادیوایمونوتراپی (تصویر سمت راست) و ایمونوتراپی (تصویر سمت چپ) [۲۶] ۱۰

شکل۱-۳. نانوذرات اکسیدآهن با لایه پوششی دکستران. میکروسکوپ الکترونی قطرکریستال مرکزی(A) و روش پراکندگی نور لیزر(DLS) قطر کامل نانوذره به همراه لایه پوششی دکستران آن را نشان میدهد(B) ۲۲

شکل ۴-۱. توزیع اندازه هیدرودینامیکی نانوذرات اکسید آهن در بافر سیترات (A). میانگین اندازه نانوذرات اکسید آهن ۱۵±۴۲ نانومتر است. تصویر نانوذرات اکسید آهن که با میکروسکوپ TEM گرفته شده است (B) اندازه هسته مرکزی این نانوذرات ۲/۵±۹ نانومتر بدست آمد. ۷۴

شکل ۴-۲. نانوذرات اکسید آهن روکش شده با دکستران در بافر سیترات(A). واکنش نانوذرات اکسید آهن نسبت به میدان مغناطیسی موضعی در کف و کنار ظرف که باعث تجمع در این نواحی شده است(B) ۷۴

شکل ۴-۳. درصد تغییرات اندازه هیدرودینامیکی نانوذرات اکسید آهن نسبت به روز اول بعد از گذشت ۶۰ روز در بافر سیترات، نشاندهنده پایداری قابل قبول نانوذرات اکسیدآهن در این محیط است. ۷۵

شکل ۴ ۴. بررسی سمیت نانوذرات اکسید آهن در غلظتهای مختلف در سلولهای SKBR3، MCF7 و A431. نانوذرات اکسید آهن در غلظتهای بیشتر از mg/ml ۵ اثر سمیت بر سلولها را نشان دادند. ۷۶

شکل ۴-۵. تصاویر T2 از موش سالم قبل(A)، ۴(B) و ۲۴(C) ساعت بعد از تزریق نانوذرات اکسیدآهن. کبد که در تصویر مشخص شده پس از جذب نانوذرات اکسید آهن تیره دیده میشود. ۷۷

شکل ۴-۶. تصویرT2 از فانتوم استاندارد و منحنی کالیبراسیون حاصل از آن ۷۸

شکل ۴-۷. مقایسه ابعاد هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن در بافر فسفات در pH های۶، ۷، ۸ و آب خالص تا ۸ هفته ۷۹

شکل ۴ ۸. بررسی میزان سمیت هرسپتین -نانوذرات اکسید آهن در غلظتهای مختلف در سلولهای SKBR3، MCF7 وA431 .....۸۰

شکل ۴ -۹. مقایسه جذب سلولهای SKBR3 از هرسپتین نانوذرات اکسید آهن و نانوذرات اکسید آهن...۸۱

شکل ۴ -۱۰. میزان جذب هرسپتین -نانوذرات اکسید آهن توسط سلولهای SKBR3، MCF7 وA431 .....۸۱

شکل ۴ -۱۱. تصاویرT2 قبل و بعد از تاثیر هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن از سلولهای مختلف که میزان متفاوتی از آنتی ژن HER2 را بیان میکنند، اختلاف شدت سیگنال ایجاد شده نتیجه جذب متفاوت نانوذرات اکسید آهن توسط این سلولهاست.....۸۲

شکل ۴ -۱۲. ارتباط بین غلظت آهن جذب شده در سلولها بعد از تاثیر دادن کمپلکس و درصد اختلاف شدت سیگنال ایجاد شده در تصاویر T2 .....۸۳

شکل ۴ -۱۳. تصاویر T2 از اندامهای موش ۴ ساعت پس از تزریق هرسپتین-نانوذرات اکسیدآهن(A)، نانوذرات اکسیدآهن(B) و C(PBS).....۸۴

شکل ۴ -۱۴. شدت سیگنال محاسبه شده از روی تصاویر T2 در هر بافت قبل و ۴ ساعت بعد از تزریق هرسپتین-نانوذرات اکسیدآهن و نانوذرات اکسیدآهن. ۸۵

شکل ۴ -۱۵. توزیع هرسپتین -نانوذرات اکسید آهن (بر حسب اندازه گیری اختلاف غلظت آهن در اندامها) در زمانهای مختلف در اندامهای موش توموری به روش استخراج بافت. غلظت آهن درطی زمان در خون کاهش و در تومور افزایش می یابد. مقدار آهن ۲۴ ساعت بعد در کلیه ها نیز قابل اندازه گیری است. (برای توضیح بیشتر به قسمت ۴ -۲ -۶ مراجعه شود).....۸۶

شکل ۴ -۱۶. موش مبتلا به تومور پستان در موقعیت تصویربرداری(A) و تصویر T2 قبل از تزریق(B)، ۴ (C)، ۲۴(D) ، ۴۸(E)، ۹۶(F) و ۱۶۸(G) ساعت بعد از تزریق هرسپتین -نانوذرات اکسیدآهن. تصویر H، ۴۸ ساعت بعد از تزریق نانوذرات اکسیدآهن را نشان میدهد. ۸۷

شکل ۴ -۱۷. نمودار رادیوکروماتوگرام هرسپتین -لوتشیم که به این ترتیب بازده نشاندارسازی ۴± ۹۴% بدست آمد. تجمع بالا از اکتیویته در قسمت ابتدایی نوار نشاندهنده اتصال موفق آنتی بادی هرسپتین به لوتشیم -۱۷۷ است(برای توضیح بیشتر به قسمت ۳ ۲۱ -۳ -۳ مراجعه شود).....۸۸

شکل ۴ -۱۸. بررسی پایداری هرسپتین -لوتشیم در بافر فسفات و سرم خون تا ۹۶ ساعت نشان داد که احتمالا ترکیب نشاندار از پایداری مناسبی در شرایط invivo برخوردار خواهد بود. ۸۹
شکل ۴ -۱۹. توزیع حیاتی هرسپتین -لوتشیم در زمانهای۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق در موش سالم.(*) نشان دهنده درصد اکتیویته بر گرم خون است که در زمانهای ۴ و ۲۴ بالا است و نشاندهنده پایداری خوب کمپلکس در شرایط درون تنی است. ۹۰
شکل ۴ -۲۰. توزیع حیاتی هرسپتین -لوتشیم در موش توموری در زمانهای ۲۴، ۴۸، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۶۸ساعت پس از تزریق.(*) درصد اکتیویته بر گرم خون و تومور با گذشت زمان بصورت معنی داری به ترتیب کاهش و افزایش می یابند. ۹۱
شکل ۴ -۲۱. تصاویر پزشکی هسته ای از موش توموری در زمانهای ۲۴(A)، ۴۸(B)، ۱۲۰(C) و ۱۶۸(D) ساعت پس از تزریق هرسپتین -لوتشیم. فلشها نشاندهنده تومور و کبد هستند ۹۲
شکل ۴ -۲۲. نمودار رادیوکروماتوگرام کمپلکس نانوذرات اکسید آهن - هرسپتین -لوتشیم که به این روش بازده نشاندارسازی ۵± ۸۵%بدست آمد (برای توضیح بیشتر به قسمت ۳ -۱۱ -۳ -۳ مراجعه شود). ۹۳
شکل ۴ -۲۳. سنجش پایداری کمپلکس در بافر فسفات و سرم خون تا ۹۶ ساعت که با روش کروماتوگرافی کاغذی انجام شد ۹۴
شکل ۴ -۲۴. سنجش پایداری کمپلکس نهایی(A) در شرایط درون تنی با اندازه گیری درصد اکتیویته بر گرم بافت در موش سالم . برای مقایسه توزیع هرسپتین -لوتشیم در بدن موش سالم قرار داده شده است(B). (*) در نمودار A تجمع اکتیویته را در این اندامها متفاوت از نمودار B است. ۹۵
شکل ۴ -۲۵. توزیع حیاتی نانوذرات اکسید آهن -هرسپتین -لوتشیم در موش توموری در زمانهای ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰، ۱۴۴ و ۱۶۸ ساعت پس از تزریق در خون، کبد، طحال، قلب، روده کوچک، روده بزرگ و تومور ۹۷
شکل ۴ -۲۶. تصاویر پزشکی هسته ای از موش توموری در زمانهای ۲۴(A)، ۴۸(B)، ۱۲۰ (C) و ۱۶۸(D) ساعت پس از تزریق نانوذرات اکسید آهن -هرسپتین -لوتشیم. فلشها نشاندهنده تومور و کبد در تصاویر هستند. ۹۸

شکل ۴ -۲۷. تصاویر T2 از موش مبتلا به تومور پستان قبل از تزریق(A)، ۴ (B)، ۲۴(C)، ۴۸(D)، ۹۶(E) و ۱۶۸(F) ساعت بعد از تزریق نانوذرات اکسیدآهن -هرسپتین -لوتشیم. ۹۹
شکل ۴ -۲۸. همبستگی بین مقادیر اکتیویته محاسبه شده از تصویربرداری پزشکی هسته ای و MRI با روش جراحی و استخراج بافت ۱۰۰
شکل ۴ -۲۹. مقایسه اثر سمیت نانوذرات اکسید آهن(A)، لوتشیم-۱۷۶(B)، لوتشیم-۱۷۷(C) در غلظتهای مختلف در سلولهای SKBR3 تا ۷ روز ۱۰۳
شکل ۴ -۳۰. بررسی اثر سمیت هرسپتین(A) و نانوذرات اکسید آهن -هرسپتین (B) در غلظتهای µg/ml ۰ -۴ در سلولهای SKBR3 تا ۷ روز ۱۰۴
شکل ۴ -۳۱. بررسی اثر سمیت هرسپتین(A)، هرسپتین - لوتشیم(B)، هرسپتین - لوتشیم نانوذرات اکسید آهن(C) و در غلظتهای µg/ml ۰ -۴ در سلولهای SKBR3 تا ۷ روز ۱۰۶
شکل ۴ -۳۲. مقایسه اثر سمیت نانوذرات اکسید آهن، هرسپتین ،هرسپتین - نانوذرات اکسید آهن، لوتشیم -۱۷۷، لوتشیم -۱۷۶، هرسپتین -لوتشیم -۱۷۷، نانوذرات اکسید آهن -هرسپتین -لوتشیم ۱۷۷ و گروه کنترل در غلظت یکسان(µg/ml ۴) در سلولهای SKBR3 تا ۷ روز ۱۰۶
شکل ۴ -۳۳. تغییرات نسبی حجم نسبت به زمان در گروههای درمانی. (برای توضیح بیشتر به قسمت ۴ -۶ مراجعه شود)..... ۱۰۷
کلیه مقادیر مربوط به اندازه گیری تغییرات نسبی حجم در گروههای مختلف در جداول الف -۹ و الف -۱۰ در ضمیمه الف خلاصه شده است..... ۱۰۸
شکل ۴ -۳۴. درصد بازدارندگی رشد تومور در گروههای درمانی در روزهای مختلف درمان. گروه هرسپتین -لوتشیم - ۴۰۰ Ciµ بیشترین بازدارندگی رشد تومور را نشان داد..... ۱۰۸
شکل ۴ -۳۵. مقایسه میانگین زمان دو (T2) و پنج(T5) برابر شدن حجم تومور در گروههای درمانی مورد مطالعه. (*) زمانها بصورت معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. ۱۰۹