

JURNAL
RADIOISOTOP DAN RADIOFARMAKA
(*Journal of Radioisotopes and Radiopharmaceuticals*)

Volume 13, Nomor 2, Oktober 2010

Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka bertujuan untuk memajukan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang radioisotop, radiofarmaka dan bidang terkait, yang diwujudkan dalam bentuk makalah ilmiah hasil penelitian atau tinjauan dan gagasan.

The Journal of Radioisotopes and Radiopharmaceuticals is published for development of knowledge, science and technology in radioisotopes, radiopharmaceuticals and related fields. It consists of scientific or experimental reports and reviews.

- Penanggung jawab** : **Dr. Abdul Mutalib**
(Managing editor)
- Ketua Penyunting** : **Dr. Rohadi Awaludin**
(Editor in chief)
- Penyunting** : **Dr. Ibon Suparman**
(Editors) **Dr. Martalena Ramli**
Drs. Kadarisman, M.Sc
Drs. Hari Suryanto
- Penyunting Tamu** : **Prof. Dr. dr. Johan Masjhur, DSKN.**
(Honorary Editors) (Hasan Sadikin Hospital)
Prof. Dr. Y. Arano
(Chiba University – Japan)
Prof. Alfons Verbruggen, Ph.D.
(University of Leuven – Belgium)
George F. Vandergrift, Ph.D
(Argonne National Laboratory – USA)
- Sekretariat** : **Daya Agung Sarwono**
(Administrators) **Darip Syamsuri**
- Penerbit** : **Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka**
(Publisher) (Center for Radioisotopes and Radiopharmaceuticals)
Badan Tenaga Nuklir Nasional
(National Nuclear Energy Agency)
Kawasan Puspiptek Serpong, Tangerang 15314
Telp/fax : +62-21-7563141
Email : pr@batan.go.id

DAFTAR ISI

Daftar Isi	i
Kata Pengantar	ii
Preparasi ^{99m}Tc-MAB Anti CEA dan Uji Biodistribusi pada Mencit Widyastuti, Cecep Taufik, Anna Roseliana, Karyadi.	51
Penandaan dan Biodistribusi Radiofarmaka Terapi Kanker Otak ^{125}I-Nimotuzumab terhadap Mencit Normal Ratu Ralna I. Martalena Ramli, Adang. H. Gunawan, Abdul Mutalib dan Anas Subarnas	57
Pembuatan Radiofarmaka PET ^{18}F-FDG Menggunakan Modul Sintesa Otomatik Purwoko, Chairuman, Adang Hardi Gunawan, Yayan Tahyan, Eny Lestari, Sri Aguswarini, Karyadi dan Sri Bagiawati.....	69
Penggunaan Silika Sebagai Media Migrasi Pemisahan Itrium-90 dari Stronsium-90 dengan Metode Elektroforesis Sulaiman, Adang Hardi Gunawan, dan Abdul Mutalib	78
Pembuatan ^{186}Re-Sn Koloid Untuk Terapi Radiosinovektomi Cecep T. Rustendi, Martalena Ramli, dan M. Subur	89
Perhitungan Pembuatan Iridium-192 untuk Radiografi Menggunakan Reaktor G.A. Siwabessy Rohadi Awaludin	97

KATA PENGANTAR

Kami mengucapkan puji dan syukur kepada Allah SWT bahwa Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka volume 13 Nomor 2 dapat diterbitkan. Kami mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu penerbitan jurnal ini.

Di dalam Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka Volume 13 Nomor 2 ini disajikan 5 makalah laporan hasil kegiatan litbang eksperimen dan 1 makalah hasil perhitungan. Makalah hasil kegiatan litbang eksperimen meliputi Preparasi ^{99m}Tc -MAB Anti CEA dan Uji Biodistribusi pada Mencit, Penandaan dan Biodistribusi Radiofarmaka Terapi Kanker Otak ^{125}I -Nimotuzumab terhadap Mencit Normal, Pembuatan Radiofarmaka PET ^{18}F -FDG Menggunakan Modul Sintesa Otomatik, Penggunaan Silika Sebagai Media Migrasi Pemisahan Itrium-90 dari Stronsium-90 dengan Metode Elektroforesis, Pembuatan ^{186}Re -Sn Koloid Untuk Terapi Radiosinovektomi. Sedang makalah hasil perhitungan berisi tentang Perhitungan Pembuatan Iridium-192 untuk Radiografi Menggunakan Reaktor G.A. Siwabessy.

Kami berharap bahwa jurnal ini dapat memberikan kontribusi dalam memajukan ilmu pengetahuan dan teknologi berkaitan dengan radioisotop dan radiofarmaka serta memberikan manfaat kepada para peneliti dan pengguna yang terkait bidang ini.

DEWAN REDAKSI

PREPARASI ^{99m}Tc-MAB ANTI CEA DAN UJI BIODISTRIBUSI PADA MENCIT

Widyastuti, Cecep Taufik, Anna Roseliana dan Karyadi
Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka - BATAN
Kawasan Puspiptek Serpong, Tangerang Selatan

ABSTRAK

PREPARASI ^{99m}Tc-MAB ANTI CEA DAN UJI BIODISTRIBUSI PADA MENCIT. Radiofarmaka ^{99m}Tc-MAB antiCEA sudah digunakan secara luas di pasaran dengan nama dagang Zevalin yang digunakan untuk mendeteksi kanker kolorektal. Sampai saat ini MAb yang digunakan berasal dari tikus, meskipun sebenarnya yang lebih disukai adalah yang berasal dari manusia. Antibodi ini berikatan secara spesifik dengan antigen karsinoembrionik (CEA) yang tereksprei melimpah pada permukaan sel kanker kolorektal. MAb AntiCEA direduksi terlebih dahulu dengan 2-merkaptotanol (1:2000) sebelum ditandai dengan teknesium-99m, dan MDP digunakan sebagai transkelator pada penandaan dengan ^{99m}Tc. Efisiensi penandaan ditentukan menggunakan kromatografi lapis tipis dengan ITLC-SG yang dijenuhkan dengan albumin serum manusia sebagai fasa diamnya dan campuran amonia-etanol-air (1:2:5) sebagai fasa geraknya untuk menentukan pengotor polar, sedangkan untuk menentukan pengotor koloid digunakan ITLC-SG sebagai fasa diam dan larutan NaCl 0,9% sebagai fasa geraknya. Studi kestabilan dilakukan terhadap antiCEA bertanda yang disimpan pada suhu kamar selama beberapa jam dan terhadap antiCEA tereduksi yang belum ditandai setelah disimpan pada suhu -40°C selama beberapa minggu. Biodistribusi ^{99m}Tc-MAB antiCEA pada mencit normal diamati pada 1 jam dan 4 jam paska injeksi. Penandaan dengan ^{99m}Tc menunjukkan efisiensi penandaan 98,53% ± 0.21% dan menurun hingga dibawah 90% setelah 9 minggu. MAb antiCEA bertanda yang disimpan pada suhu kamar stabil hingga 5 jam paska injeksi, sedangkan yang belum ditandai stabil hingga 9 minggu. Biodistribusi ^{99m}Tc-MAB antiCEA pada mencit normal 1 jam dan 4 jam paska injeksi menunjukkan penangkapan yang tinggi pada berbagai organ.

Katakunci: teknesium-99m, monoklonal antibodi anti CEA, penandaan, biodistribusi, kanker kolorektal.

ABSTRACT

PREPARATION OF ^{99m}Tc-ANTI CEA MAB AND BIODISTRIBUTION TEST IN MICE. ^{99m}Tc-antiCEA MAB radiopharmaceutical has been commercially used under the brand name of Zevalin which is used to detect colorectal cancer. Although human MAb is preferred but commercial product is still using murine originated MAb. This antibody binds specifically to carcinoembrionic antigen (CEA) which is overexpressed in colorectal cancer cells. AntiCEA MAb was reduced with diluted 2-mercaptoethanol (1:2000) prior to labelling with ^{99m}Tc, and MDP was used as transchelating agent. Labeling efficiency was analysed with chromatography using HSA impregnated ITLC-SG as stationary phase and mixture of ammonia-ethanol-water (1:2:5) as eluants to determine polar ^{99m}Tc impurities, and ITLC-SG eluted with saline to determine ^{99m}Tc-colloid. Stability study was carried out on radiolabeled antiCEA MAb stored at room temperature within several hours and on reduced antiCEA MAb stored at -40°C for several weeks. Biodistribution of ^{99m}Tc-antiCEA MAb in normal mice was observed 1 hour and 4 hours post injection. Labeling efficiency of antiCEA MAb was 98,53% ± 0.21% and decreasing to less than 90% after 9 weeks. Radiolabeled anti CEA MAb kept at room temperature was stable within 5 hours post injection, and the frozen kits were stable up to 9 weeks. Biodistribution of ^{99m}Tc-antiCEA MAb in normal mice at 1 hour and 4 hours post injection showed high uptake in various organs.

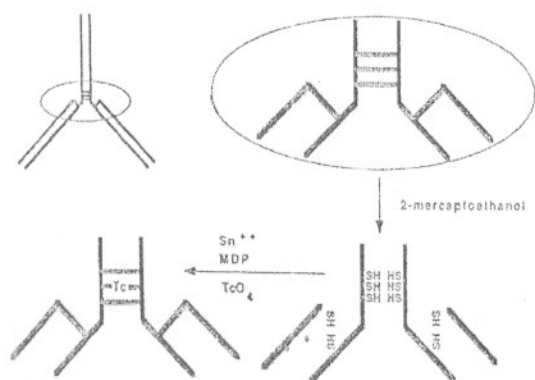
Keywords: technetium-99m, anti CEA MAb, labelling, biodistribution, colorectal cancer.

PENDAHULUAN

Salah satu jenis kanker yang banyak ditemukan di Indonesia adalah kanker kolorektal atau kanker pada saluran pencernaan bagian ujung [1]. Deteksi kanker pada umumnya masih menggunakan metode konvensional, antara lain MRI, ultrasonografi, biopsi yang dilanjutkan dengan pengujian di lab patologi klinis, dan biasanya kombinasi dari metode tersebut di atas. Melalui teknik nuklir dapat diupayakan metode deteksi alternatif yang lebih spesifik dan sensitif menggunakan radiofarmaka berbasis antibodi monoklonal yaitu Tc-99m-anti CEA. Mab Anti CEA merupakan antibodi monoklonal yang mempunyai afinitas ikatan yang tinggi terhadap antigen karsinoembrionik (CEA) karena berasal dari antibodi yang ditumbuhkan dalam tikus yang diinduksi dengan kanker kolorektal kemudian dimurnikan dan diperbanyak melalui teknik kloning sehingga diperoleh antibodi anti CEA yang homogen [2,3].

Radiofarmaka Mab anti CEA telah digunakan di negara-negara maju, di pasaran dikenal dengan nama dagang Zevalin. Mab yang digunakan dalam Zevalin berasal dari tikus/murin, yang apabila digunakan berulang-ulang dapat menyebabkan reaksi dari tubuh dengan membentuk antibodi yang bertujuan untuk mengekskresi Mab anti CEA. Antibodi tandingan ini dikenal dengan istilah *Human Anti Mouse Antibody* (HAMA). Oleh karena itu penggunaan human Mab lebih diharapkan, tetapi produsennya sangat terbatas dan harganya pun sangat mahal, sehingga penggunaan murin Mab masih diperbolehkan oleh badan regulasi internasional tetapi hanya untuk sekali pemakaian (tidak digunakan berulang-ulang) [2].

Pengembangan radiofarmaka Mab anti CEA di PRR telah dimulai beberapa tahun yang lalu, dan sekarang memasuki uji stabilitas dan uji biodistribusi pada hewan percobaan. Bahan prekursor yang digunakan dalam penandaan dengan ^{99m}Tc adalah kit MDP, sedangkan penelitian yang sebelumnya menggunakan kit pirofosfat. Penandaan Mab anti CEA dengan ^{99m}Tc menggunakan metode penandaan langsung, yaitu gugus disulfida yang ada dalam molekul protein Mab terlebih dahulu direduksi menjadi gugus sulfhidril kemudian direaksikan dengan ^{99m}Tc . Pada umumnya reaksi penandaan dengan protein berlangsung lama sehingga ada resiko Tc dalam bentuk perteknetat (valensi 7+) akan tereduksi dan terhidrolisis menjadi Tc koloid yang tidak reaktif lagi. Keadaan yang tidak diharapkan ini dapat dicegah dengan menambahkan suatu ligan yang lemah/mudah digantikan sebagai perantara yang berfungsi sebagai transkelator, yaitu untuk mengikat Tc tereduksi selama proses reaksi penandaan Mab berlangsung yang mana ligan yang berikatan dengan Tc tersebut akan digantikan dengan molekul Mab. Ligan yang biasa digunakan antara lain metilen difosfonat, pirofosfat, glukonat, glukohexonat, dan sebagainya. Skema reaksi penandaan Mab dengan ^{99m}Tc dapat dilihat pada Gambar 1 [4].



Gambar 1. Skema penandaan Mab dengan ^{99m}Tc dengan metode penandaan langsung [4]

Telah ada kesepakatan lisan dengan staf dokter di Bagian Radiodiagnostik RS Kanker Dharmais untuk melakukan uji pada pasien apabila penelitian ini sudah selesai, dan apabila telah memperoleh ijin dari Komisi Etik Kedokteran [1].

BAHAN DAN TATA KERJA

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah Mab anti CEA (Biodesign), metilen difosfonat /MDP (Fluka), timah(II)klorida dihidrat (Sigma-Aldrich), 2-merkaptotanol (Merck), kolom sephadex G-25 (PD-10, Pharmacia), larutan NaCl 0,9% (IPHA), air steril pro injeksi (IPHA), dan bahan kimia lainnya.

Peralatan yang digunakan adalah peralatan kromatografi, alat pendeteksi gamma, TLC scanner (Veenstra Instrument), hewan percobaan mencit, peralatan gelas dan peralatan pendukung lainnya.

Tata kerja

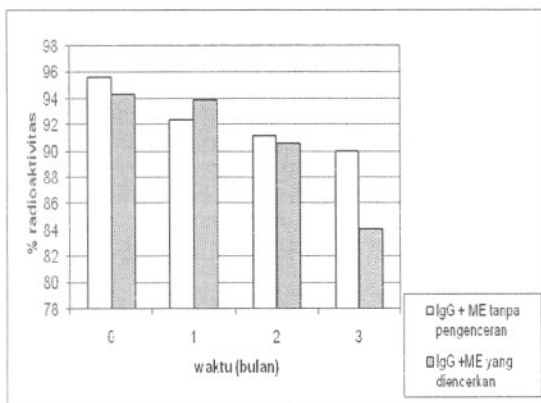
Preparasi ^{99m}Tc -Mab anti CEA terdiri atas beberapa tahapan, yaitu reduksi anti CEA dengan 2-merkaptotanol dengan perbandingan mol 1:2000,

pembuatan kit Sn-MDP yang mengandung 0,1 mg SnCl_2 dihidrat dan 1 mg MDP, penandaan ^{99m}Tc -Mab anti CEA dengan mereaksikan 0,1 mg anti CEA tereduksi, 5 μl Sn-MDP (yang sudah direkonstitusi dengan 0,5 ml salin) dan 10 mCi ^{99m}Tc pada suhu kamar selama 30 menit, karakterisasi dan analisis kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -Mab anti CEA, uji biodistribusi pada mencit normal pada 1, 2 dan 24 jam, uji stabilitas ^{99m}Tc -Mab anti CEA, dan uji stabilitas Mab anti CEA tereduksi. Karakterisasi Mab anti CEA tereduksi dilakukan dengan HPLC size exclusion, analisis kemurnian radiokimia dilakukan dengan KK ialah aseton dengan fasa diam kertas Whatman-1 dan KLT dengan fasa diam ITLC-SG dengan 2 sistem eluen yaitu dapar sitrat 0,15 M pH 5,5 serta ITLC-SG yang dimpregnasi dengan albumin serum 1% dengan eluen campuran etanol, ammonium hidroksida dan air (2:1:5). KK dengan eluen aseton dimaksudkan untuk memisahkan pengotor Tc bebas yang akan terelusi pada Rf 1, KLT dengan eluen dapar sitrat dimaksudkan untuk memisahkan campuran Tc-IgG + Tc koloid pada Rf 0 dari pengotor lainnya yang akan terelusi pada Rf 0,8, serta KLT dengan eluen campuran etanol, ammonium hidroksida dan air yang akan memisahkan pengotor Tc koloid pada Rf 0 dari spesi lainnya yang akan terelusi pada Rf 0,8. Dengan mengetahui persentase pengotor maka persentase Tc-IgG dapat dihitung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mengingat Mab anti CEA mempunyai struktur kimia yang mirip dengan IgG, maka IgG digunakan sebagai model untuk memperoleh kondisi reaksi penandaan yang optimal [7]. Disamping itu IgG mudah didapat di pasaran (apotek) sebagai produk obat dengan harga yang tidak terlalu mahal.

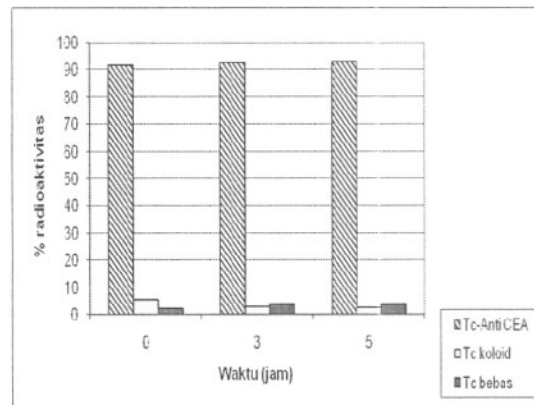
Percobaan penandaan dengan IgG dilakukan dengan menggunakan 2-merkaptotanol yang diencerkan sebagai reduktor untuk memutuskan ikatan disulfida (-S-S-) menjadi gugus tiol bebas (-SH). Penandaan ^{99m}Tc-IgG dengan menggunakan reduktor 2-merkaptotanol (2-ME) yang diencerkan dan yang tidak diencerkan menunjukkan hasil penandaan yang sama tinggi, tetapi stabilitasnya terhadap waktu penyimpanan berbeda (Gambar 2). IgG yang direduksi dengan 2-ME yang diencerkan relatif kurang stabil dibandingkan dengan yang tidak diencerkan karena jumlah molekul reduktor yang terlalu sedikit akan menyebabkan gugus -SH mudah teroksidasi kembali menjadi gugus -S-S-.



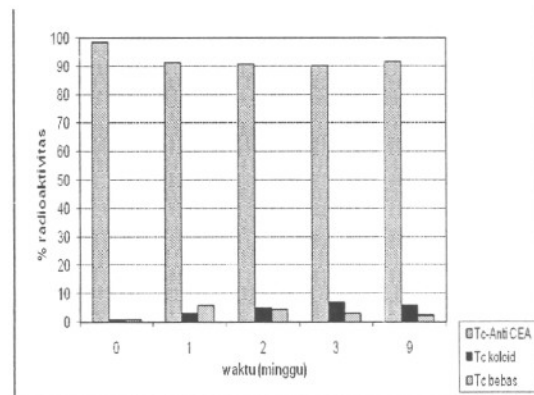
Gambar 2. Hasil penandaan ^{99m}Tc-IgG yang menggunakan 2-merkaptotanol

Penandaan ^{99m}Tc-Mab antiCEA menggunakan 2-ME yang diencerkan 2 kalinya menunjukkan efisiensi penandaan diatas 90% dan stabil pada suhu

kamar hingga 5 jam paska penandaan (Gambar 3). Kit Mab antiCEA yang disimpan di suhu -40°C masih dapat ditandai dengan efisiensi penandaan diatas 90% pada minggu ke-9 setelah preparasi (Gambar 4). Stabilitas Mab anti CEA tereduksi hanya bertahan kurang dari 3 bulan disebabkan oleh mudahnya gugus -SH teroksidasi kembali menjadi gugus -S-S- (gugus disulfida) dengan adanya oksigen atau oksidator lainnya yang ada dalam atmosfer [6].



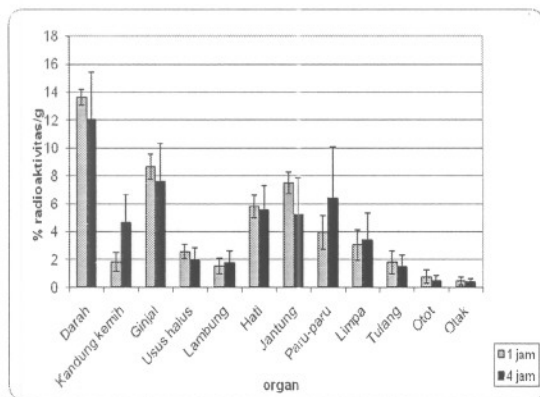
Gambar 3. Stabilitas ^{99m}Tc-Mab anti CEA terhadap waktu penyimpanan di suhu kamar (25°C)



Gambar 4. Stabilitas Mab anti CEA tereduksi terhadap waktu penyimpanan di suhu -40°C

Uji biodistribusi pada mencit normal pada jam pengamatan 1 dan 4 jam menunjukkan perbedaan yang tidak berarti yaitu adanya penangkapan

radioaktivitas yang berasal dari ^{99m}Tc -Mab anti CEA di dalam pembuluh darah dan berbagai organ, yaitu kandung kemih, ginjal, hati, jantung, paru-paru dan limpa. Penangkapan ^{99m}Tc -Mab anti CEA dalam berbagai organ tersebut juga akan dapat dilihat pada mencit yang diinduksi tumor disamping penangkapan pada jaringan tumor itu sendiri. (Gambar 5). Hal ini sesuai dengan informasi dari literatur yang menunjukkan penangkapan ^{99m}Tc -Mab anti CEA dalam darah, ginjal, kandung kemih, hati, paru-paru, lambung dan limpa [8]. Sampai saat ini percobaan dengan mencit yang diinduksi tumor belum dapat dilakukan karena fasilitas laboratorium belum siap.



Gambar 5. Biodistribusi pada mencit normal diamati pada 1 dan 4 jam paska injeksi

Untuk mengurangi penangkapan radioaktivitas di hati dan mempercepat ekskresi dari organ-organ penting akan lebih tepat bila digunakan molekul antibodi yang difragmentasi sehingga berat molekulnya lebih kecil seperti yang digunakan pada produk komersial CEA-Scan atau ^{99m}Tc Arcitumomab [9].

KESIMPULAN

Mab anti CEA dapat ditandai dengan ^{99m}Tc dengan efisiensi penandaan yang tinggi menggunakan metilen difosfonat sebagai koligan yang berfungsi sebagai transkelator. Mab anti CEA dapat bereaksi dengan ^{99m}Tc setelah terlebih dahulu direduksi ikatan disulfidanya menjadi sulfida bebas dengan menggunakan 2-merkaptotanol sebagai reduktor. Mab anti CEA yang telah direduksi dan disimpan pada suhu -40°C stabil hingga 9 minggu, sedangkan yang telah ditandai dengan ^{99m}Tc stabil hingga 5 jam apabila disimpan pada suhu kamar.

Uji biodistribusi Mab anti CEA bertanda ^{99m}Tc pada mencit normal yang diamati pada 1 dan 4 jam paska injeksi menunjukkan penyebaran di berbagai organ, sesuai dengan sifat antibodi humoral yang terdistribusi di berbagai organ di dalam tubuh. Namun demikian pada jaringan kanker khususnya kanker kolorektal (usus besar) penangkapan akan terlihat setelah 24 jam paska injeksi, hanya percobaan ini belum dapat dilakukan karena keterbatasan fasilitas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Kementerian Departemen Pendidikan Tinggi yang telah mendanai kegiatan ini melalui Program Insentif BATAN-Dikti 2009. Penulis juga mengucapkan terima kasih pada PT Batan Teknologi yang telah membantu penyediaan larutan perteknetat ^{99m}Tc dan rekan-rekan di PRR yang telah membantu penelitian ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. KARDINAH, *komunikasi pribadi*, Maret 2008.
2. MATHER, S.J., Radiolabelled Antibody and Peptides, *Textbook of Radiopharmaceuticals: Theory and Practices*, Charles B. Sampson, 3rd Ed. , 1999, 63-82.
3. MATHER, S.J., , ELLISON, D., Reduction-mediated Technetium-99m Labeling of Monoclonal Antibodies, *J. Nucl. Med* 31: 692-697, 1990.
4. SALOUTI, M., RAJABI, H., BABAEI, M.H., *et al*, A New Monoclonal Antibody Radiopharmaceutical for Radioimmunosintigraphy of Breast Cancer : Direct Labeling of Antibody and its Quality Control, *DARU* Vol. 14 No. 1, 2006, Tehran, Iran, p.51-57.
5. ROSE, N.R, MILGROM, F., VAN OSS, C.J, *Principles of Immunology*, 2nd Ed., MacMillan Publishing Co., Inc., pp. 41-63
6. MISHRA, P., *et al*, A novel method for labeling human Immunoglobulin-G with ^{99m}Tc suitable for inflammation scintigraphy, *Nucl. Med. Comm* (1994), (15) 723-729.
7. LAKSMI A.A., SRI AGUSWARINI, GINA M., ANNA R., WIDYASTUTI, Preparasi dan Uji Biodistribusi ^{99m}Tc-Human Immunoglobulin-G, *Prosiding Seminar Penelitian dan Pengelolaan Perangkat Nuklir*, PTAPB-BATAN, Yogyakarta 5 Sept. 2007, hal. 164-167.
8. WATANABE, N., ORIUCHI, N., SUGIYAMA, S., *et al*, Radioimmunosintigraphy of Colorectal Cancer with Technetium-99m-labeled Murine Anti-carcinoembryonic Antigen Monoclonal Antibody in Athymic Nude Mice, *Annals of Nucl. Med.* Vol.8, No. 1, p. 23-30, 1994.