

## BIODISTRIBUSI $^{131}\text{I}$ -ANTIBODI MONOKLONAL ANTI ANTIGEN KARSINO EMBRIONIK (CEA) $\text{F(ab}')_2$ UNTUK PENYIDIK KANKER KOLOREKTUM

Nurlaila B. Setiawan

Pusat Penelitian Teknik Nuklir-Badan Tenaga Atom Nasional

### ABSTRAK

BIODISTRIBUSI  $^{131}\text{I}$ -ANTIBODI MONOKLONAL ANTI ANTIGEN KARSINO EMBRIONIK (CEA)  $\text{F(ab}')_2$  UNTUK PENYIDIK KANKER KOLOREKTUM. Telah dilakukan penandaan antibodi monoklonal (AbM) anti antigen karsino embrionik (CEA)  $\text{F(ab}')_2$  dengan radionuklida  $^{131}\text{I}$  untuk penyidik kanker kolorektum. Uji biodistribusi menunjukkan bahwa penimbunan radioaktivitas tertinggi pada sel kanker terjadi pada 8 jam setelah penyuntikan. Penyidikan dengan hasil yang maksimal dapat dilakukan 24 jam setelah penyuntikan. Senyawa  $^{131}\text{I}$ - AbM anti CEA  $\text{F(ab}')_2$  yang disimpan pada temperatur - 20 °C tetap stabil selama 12 hari. Percobaan klinis pada penderita kanker saluran pencernaan serta hati menunjukkan bahwa penyidikan memberikan nilai diagnostik.

### ABSTRACT

BIODISTRIBUTION OF  $^{131}\text{I}$ -MONOCLONAL ANTIBODIES ANTI CARCINO EMBRYONIC ANTIGEN (CEA)  $\text{F(ab}')_2$  FOR COLORECTAL CARCINOMA IMAGING. Radioiodination of monoclonal antibodies anti carcino embryonic antigen (CEA)  $\text{F(ab}')_2$  with  $^{131}\text{I}$  has been carried out. Biodistribution study showed that high radioactivity accumulation was found in cancer cells 8 hours after injection. Imaging can be done 24 hours after injection with satisfactory results. The radiolabelled compounds which were stored at - 20 °C were stable for 12 days. Clinical trial in the gastrointestinal and hepatic cancer indicated the cancer scan itself has diagnostic value.

### PENDAHULUAN

Beberapa sediaan radiofarmasi di antaranya sediaan untuk penyidikan sel kanker menjadi tumpuan para peneliti untuk diagnosis penyakit kanker secara dini.

Telah dikembangkan pembuatan antibodi monoklonal anti sel kanker berdasarkan teknik fusi seluler (1). Besarnya afinitas serta spesifitas suatu antibodi monoklonal anti sel kanker untuk berikatan dengan sel kanker pada determinan antigeniknya, memungkinkan dapat digunakannya antibodi monoklonal tersebut sebagai pembawa untuk tujuan diagnosis maupun terapi penyakit kanker. Beberapa keuntungan antibodi monoklonal antara lain : antibodi ini homogen, spesifik terhadap antigen dan hanya berantaraksi dengan satu determinan antigeniknya.

Adanya kecenderungan antibodi monoklonal untuk ditandai dengan suatu zat radioaktif, mendukung dapat diproduksinya suatu antibodi monoklonal bertanda radioaktif yang berfungsi sebagai perunut untuk maksud di atas.

Di bidang Kedokteran Nuklir, diagnosis secara *in vivo* menggunakan antibodi bertanda

radioaktif dikenal dengan nama *immuno-scintigraphy* dimana dilakukan visualisasi menggunakan gamma kamera pada suatu daerah hiperfiksasi yang disebabkan oleh akumulasi antibodi monoklonal bertanda radioaktif yang spesifik pada sel-sel kanker tertentu.

Sel antigen karsino embrionik (CEA) banyak terdapat pada kanker kolorektum. Disamping itu terdapat pula pada kanker saluran pencernaan misalnya lambung, kanker organ-organ lain diantaranya hati, pankreas, paru-paru, uterus dan lain-lain.

Antibodi monoklonal anti antigen karsino embrionik (CEA) merupakan antibodi monoklonal yang diperoleh dengan cara fusi seluler menggunakan sel kanker yang berasal dari penderita kanker di atas sebagai antigen.

Pada penelitian terdahulu (2) telah diperoleh kondisi optimal penandaan antibodi monoklonal anti antigen karsino embrionik  $\text{F(ab}')_2$  dengan radionuklida  $^{131}\text{I}$  menggunakan oksidator iodogen (3).

Untuk mengetahui nasib sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F(ab}')_2$ , perlu dilakukan studi

biodistribusi dan penyidikan pada hewan percobaan yang telah ditransplantasi dengan sel kanker kolorektum. Disamping itu dilakukan pula pengujian penyidikan pada penderita kanker di rumah sakit.

## BAHAN DAN TATA KERJA

### Bahan dan peralatan

Antibodi monoklonal anti CEA  $F(ab')_2$  diperoleh dari Centocor, antigen CEA dari Kremlin Bicetre, iodogen (Pierce) resin penukar anion Dowex 100-200 mesh dan albumin serum manusia (Sigma).  $^{131}I$  diperoleh dari CIS Bio-international serta zat-zat kimia lain buatan E. Merck dengan tingkat kemurnian pereaksi analisis.

Binatang percobaan adalah mencit gundul, jantan dewasa jenis Swiss (Iffa Credo) yang telah ditransplantasi dengan sel kanker kolorektum manusia.

Peralatan yang digunakan ialah pencacah saluran tunggal (Ortec), alat penyidik (scanner) buatan Berthold serta gamma kamera di rumah sakit.

### Tata kerja

#### Penandaan AbM anti CEA $F(ab')_2$ dengan $^{131}I$

Ke dalam vial 10 ml steril yang telah disalut dengan iodogen (20  $\mu$ g) ditambahkan berturut-turut AbM anti CEA  $F(ab')_2$  sebanyak 1 mg dalam 0,5 ml dapar fosfat 0,1 M; pH 7,4 dan 5 - 6 mCi larutan  $^{131}I$ . Larutan diinkubasi pada temperatur kamar selama 15 menit sambil diputar di atas pengaduk rotasi (rotative stirrer). Senyawa bertanda yang diperoleh, dimurnikan melalui kolom resin penukar anion Dowex 100-200 mesh (0,5 x 10 cm) yang telah dijenuhkan dengan dapar fosfat 0,1M; pH 7; NaCl 0,15M dan HSA 5%. Sebagai eluen digunakan dapar fosfat 0,1M; pH 7,4. Hasil pemurnian disterilkan dengan penyaring bakteri *swinnex* 0,22  $\mu$ m, kemudian diencerkan dengan 0,5 ml larutan dapar fosfat 0,1M; pH 7,0; HSA 5%.

#### Penentuan kemurnian radiokimia senyawa $^{131}I$ -AbM anti CEA $F(ab')_2$

Kemurnian radiokimia senyawa  $^{131}I$ -AbM anti CEA  $F(ab')_2$  ditentukan dengan metode elektroforesis menggunakan dapar barbital 0,07M, pH 8,6 sebagai fase gerak serta kertas Whatman 3MM sebagai fase diam. Elektroforesis ini dilakukan selama  $\pm$  20 menit dengan tegangan sebesar 15 volt/cm. Strip kertas elektroforesis dikeringkan kemudian dicacah dengan menggunakan detektor NaI-Tl (Berthold).

Rf sediaan terletak pada daerah 0,2 sedangkan iodida anorganiknya terletak pada  $Rf=0,75$ .

#### Pemeriksaan imunoreaktivitas senyawa $^{131}I$ -AbM anti CEA $F(ab')_2$

Penentuan imunoreaktivitas senyawa  $^{131}I$ -AbM anti CEA  $F(ab')_2$  dilakukan dengan metode kromatografi afinitas menggunakan suatu tabung yang berisi sephadex 4B-CNBr yang berikatan dengan antigen karsino embrionik sebagai fase padat. Sejumlah senyawa bertanda yang telah diketahui radioaktivitasnya, dimasukkan ke dalam tabung yang berisi fase padat dalam keadaan berlebih. Campuran ini diinkubasi pada temperatur kamar selama minimal satu jam sambil digoyang di atas pengaduk yang berputar. Selanjutnya fase padat tersebut dicuci beberapa kali dengan dapar fosfat 0,05M; pH 7,4; HSA 5%, kemudian radioaktivitas yang terdapat pada fase padat diukur. Besarnya radioaktivitas yang terfiksasi pada fase padat dibandingkan dengan radioaktivitas yang digunakan mula-mula dinyatakan sebagai imunoreaktivitas sediaan  $^{131}I$ -AbM anti CEA  $F(ab')_2$ .

#### Penimbunan aktivitas senyawa $^{131}I$ -AbM anti CEA $F(ab')_2$ pada hewan percobaan.

Senyawa  $^{131}I$ -AbM anti CEA  $F(ab')_2$  dengan aktivitas 300  $\mu$ Ci (0,2 ml) disuntikkan pada mencit gundul (yang telah ditransplantasi dengan sel-sel kanker kolorektum) melalui vena ekor. Setelah selang waktu 1, 4, 8, 12, 24, 48 jam, mencit tersebut dimatikan dengan eter dan ditimbang beratnya. Selanjutnya dilakukan pembedahan dan organ-organ yang diperlukan diambil serta ditimbang. Cuplikan dari organ-organ tersebut ditimbang dan diukur aktivitasnya dengan alat pencacah saluran tunggal. Hasil pencacahan aktivitas per gram organ dihitung dan dinyatakan sebagai persentase penimbunan aktivitas.

Untuk mencegah terakumulasinya  $^{131}I$  pada kelenjar tiroid, maka mencit tersebut diberi larutan lugol 5% dengan jalan menambahkan larutan tersebut pada air minum mencit (0,5 ml/300 ml air) dimulai sejak 3 hari sebelum penyuntikan hingga mencit tersebut dimatikan (4).

#### Penyidikan

Sejumlah 0,2 ml (300  $\mu$ Ci) senyawa  $^{131}I$ -AbM anti CEA  $F(ab')_2$  disuntikkan pada mencit gundul (yang telah ditransplantasi dengan sel kanker kolorektum) melalui vena ekor. Setelah waktu tertentu, tikus dibius dengan eter dan

dilakukan penyidikan dengan alat animal scanner (Berthold).

**Aplikasi klinis senyawa  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$**

Senyawa  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA dengan aktivitas  $\pm 3 \text{ mCi}$  disuntikkan secara intravena pada penderita kanker. Setelah 24-48 jam, dilakukan penyidikan menggunakan gamma kamera. Dua jam sebelum penyuntikan di atas, kepada penderita tersebut diberikan 1 gram perklorat dan 480 mg kalium iodida secara oral, untuk mencegah terjadinya penangkapan  $^{131}\text{I}$  oleh tiroid. Pemberian ini dilakukan selama 1 minggu dengan dosis masing-masing  $2 \times 250 \text{ mg}$  (perklorat) dan  $3 \times 120 \text{ mg}$  (KI) per hari.

**Pemeriksaan stabilitas senyawa  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$**

Stabilitas senyawa  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  yang disimpan pada temperatur  $4^\circ\text{C}$  dan  $-20^\circ\text{C}$  diamati secara teratur dengan pengujian kemurnian radiokimia serta imunoreaktivitasnya dengan cara seperti yang telah diterangkan sebelumnya.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Suatu formula sediaan radiofarmasi yang memiliki kemurnian radiokimia yang tinggi, baru dapat diaplikasikan apabila telah ditunjang dengan uji biologisnya. Salah satu cara untuk melihat nasib sediaan dalam tubuh adalah dengan melakukan uji biodistribusi. Dengan uji biodistribusi akan terungkap ke arah mana sediaan tersebut tersebar dan berapa lama sediaan tersebut terakumulasi dalam suatu organ.

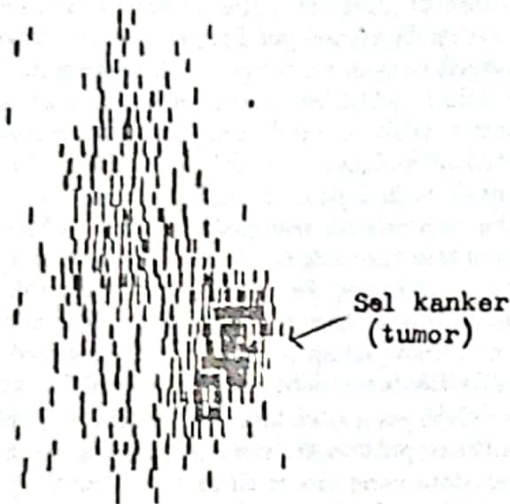
Untuk maksud ini, uji biodistribusi dilakukan pada mencit gundul yang telah ditransplantasi dengan sel kanker kolorektum manusia. Hasil uji biodistribusi menunjukkan bahwa 8 jam setelah penyuntikan, penimbunan radioaktivitas sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  banyak terjadi pada jaringan sel kanker. Dua belas jam setelah penyuntikan terlihat bahwa radioaktivitas yang terdapat pada jaringan sel kanker menurun. Pada organ-organ normal, radioaktivitas menurun dengan cepat dan pada 48 jam setelah penyuntikan terlihat di sini bahwa radioaktivitas tersebut mendekati nol (Tabel 1).

Dari pengujian biodistribusi ini, dapat ditentukan pula waktu penyidikan yang optimal. Dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa penyidikan dengan hasil yang maksimal dapat dilakukan 24 jam setelah penyuntikan dimana diperoleh perbandingan antara radioaktivitas yang tertimbun pada jaringan sel kanker dan pada organ-organ normal cukup besar. Makin besar harga perbandingan ini, makin baik pula hasil penyidikan yang diperoleh. Hasil penyidikan senyawa  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  pada mencit gundul yang telah ditransplantasi dengan sel kanker kolorektum manusia, menunjukkan bahwa akumulasi radioaktivitas terjadi pada sel kanker (Gambar 1)

Untuk pemakaian *in vivo*, antibodi yang digunakan umumnya berupa fragmen  $\text{F}(\text{ab}')_2$  karena bentuk ini kurang imunogen serta terdifusi lebih cepat pada daerah determinan antigeniknya dibandingkan dengan imunoglobulin (IgG) total. Selain itu fragmen  $\text{F}(\text{ab}')_2$  ini dapat tereliminasi dengan cepat dari sirkulasi di dalam tubuh (5) sehingga dapat meningkatkan

Tabel 1. Distribusi sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti (CEA)  $\text{F}(\text{ab}')_2$  pada binatang percobaan

Organ	Persentase penimbunan radioaktivitas per gram organ setelah beberapa waktu tertentu (jam)					
	1	4	8	12	24	48
Tumor	6,52 $\pm$ 1,87	24,50 $\pm$ 0,91	32,12 $\pm$ 0,98	27,50 $\pm$ 1,02	19,22 $\pm$ 0,31	6,82 $\pm$ 1,05
Hati	6,01 $\pm$ 0,29	3,49 $\pm$ 0,35	2,15 $\pm$ 1,02	1,76 $\pm$ 0,36	0,25 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,03
Ginjal	13,10 $\pm$ 0,82	8,20 $\pm$ 2,75	5,96 $\pm$ 0,26	3,61 $\pm$ 0,44	1,21 $\pm$ 1,33	0,11 $\pm$ 0,21
Paru-paru	11,93 $\pm$ 1,21	7,15 $\pm$ 1,51	5,01 $\pm$ 0,68	4,10 $\pm$ 0,07	1,22 $\pm$ 0,87	0,12 $\pm$ 0,04
Limpa	5,05 $\pm$ 2,79	2,36 $\pm$ 1,01	1,80 $\pm$ 2,75	1,20 $\pm$ 0,22	0,32 $\pm$ 0,12	0,09 $\pm$ 0,11
Otot	1,50 $\pm$ 0,81	1,13 $\pm$ 1,92	0,69 $\pm$ 0,21	0,47 $\pm$ 0,29	0,15 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,32
Tulang	2,22 $\pm$ 0,36	1,68 $\pm$ 1,03	1,02 $\pm$ 0,12	0,61 $\pm$ 0,04	0,15 $\pm$ 0,04	0,09 $\pm$ 0,05
Darah	28,53 $\pm$ 1,67	12,63 $\pm$ 0,32	7,15 $\pm$ 1,77	5,75 $\pm$ 2,06	1,18 $\pm$ 0,10	0,12 $\pm$ 0,05



Gambar 1. Hasil penyidikan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  pada mencit gundul yang telah ditransplantasi dengan sel kanker kolorektum manusia, 24 jam setelah penyuntikan.

hasil kontras antara radioaktivitas yang terfiksasi pada jaringan sel kanker terhadap latar belakang.

Aplikasi klinis sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  pada penderita kanker menunjukkan adanya penimbunan radioaktivitas pada daerah yang diduga adanya sel kanker. Gambar 2 menunjukkan hasil penyidikan sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  pada penderita kanker saluran pencernaan dimana terlihat adanya akumulasi radioaktivitas pada daerah rongga perut.

Pada Gambar 3 terlihat adanya akumulasi radioaktivitas pada daerah rongga perut dan rektum.

Disamping itu, sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  dapat pula digunakan untuk penyidikan kanker hati karena pada sel kanker hati selain mengandung *alpha foetoprotein* (AFP) juga mengandung *carcino embryonic antigen* CEA. Hasil penyidikan sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  pada penderita kanker hati dapat dilihat pada Gambar 4.

Dalam diagnosis penyakit kanker dengan cara immunoscintigraphy menggunakan sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  ini, kesimpulan yang diambil harus ditunjang pula oleh data klinis secara *in vitro* dengan metode radioim-

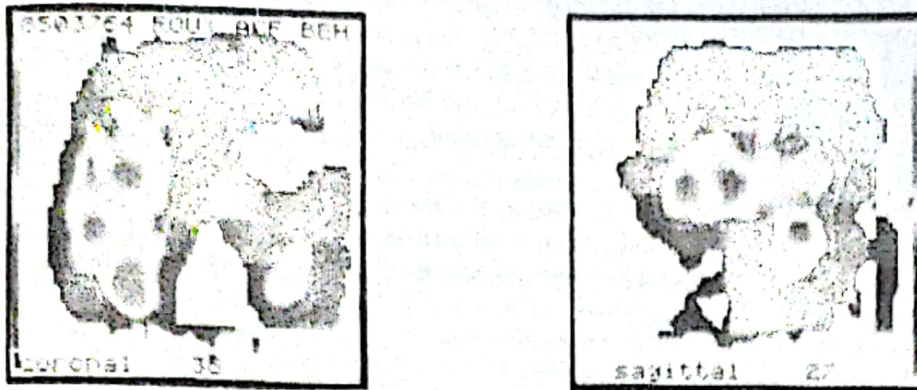


Gambar 2. Hasil penyidikan sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  pada penderita kanker rongga perut (colon dan coecum), 2 hari setelah penyuntikan (dosis  $\pm 3$  mCi).



Gambar 3. Hasil penyidikan sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$  pada penderita kanker rongga perut dan rektum, 2 hari setelah penyuntikan (dosis  $\pm 3$  mCi).

munoassay menggunakan sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA  $\text{F}(\text{ab}')_2$ .



Gambar 4. Hasil penyidikan sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA F(ab) $_2$  pada penderita kanker hati, 24 jam setelah penyuntikan (dosis  $\pm$  3 mCi); coronal (a), sagittal (b).

Stabilitas sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA F(ab) $_2$  diketahui dengan jalan memeriksa kemurnian radiokimia serta imunoreaktivitas sediaan tersebut pada selang waktu tertentu. Dari pemeriksaan diperoleh bahwa pada hari kedua, sediaan yang disimpan pada 4 °C telah mengalami penurunan kemurnian radiokimia (80,67%) serta imunoreaktivitasnya (56,21%). Untuk sediaan yang disimpan pada - 20 °C menunjukkan bahwa walaupun terjadi kecenderungan pelepasan iodida anorganik, tetapi sampai 12 hari, baik kemurnian radiokimia maupun imunoreaktivitasnya masih di atas harga persyaratan yang ditetapkan (Tabel 2).

Setelah 12 hari, radioaktivitas sediaan telah menjadi sangat kecil sehingga pengujian stabilitas tidak dapat dilanjutkan.

#### KESIMPULAN

Hasil uji biodistribusi menunjukkan bahwa penimbunan radioaktivitas tertinggi terdapat pada sel kanker dan penyidikan dapat dilakukan 24 jam setelah penyuntikan.

Evaluasi hasil penyidikan pada hewan percobaan memberikan hasil yang memuaskan.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Kohler, G., Milstein, C., Continuous Cultures of Fused Cells Secreting Antibody, Nature (1975) 256, 495-497.
2. Nurlaila, B. Setiawan, Radioiodinasi serta uji kualitas antibodi monoklonal untuk diagnosis *in vivo*, Proceedings Seminar Reaktor Nuklir dalam Penelitian Sains dan Teknologi Menuju Era Tinggal Landas, Oktober, Bandung, PPTN-BATAN (1991) 332-336.

Tabel 2. Kestabilan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA F(ab) $_2$

Hari ke	Penyimpanan pada 4 °C		Penyimpanan pada - 20 °C	
	KR (%)	IR (%)	KR (%)	IR(%)
0	97,0	79,9	97,0	79,9
1	96,0	75,2	98,0	78,7
2	80,7	56,2	97,1	79,2
4	74,9	34,3	96,2	76,6
6	74,2	48,3	97,2	78,1
8	52,3	22,1	95,8	76,1
10	59,6	24,7	96,9	71,8
12	44,7	20,4	95,8	63,4

Keterangan:

KR: Kemurnian radiokimia

IR: Imunoreaktivitas

Sediaan  $^{131}\text{I}$ -AbM anti CEA F(ab) $_2$  yang disimpan pada -20 °C dalam waktu 12 hari masih mempunyai kemurnian radiokimia di atas 95% dan imunoreaktivitas di atas 60%.

3. Fraker, P. J., Speck, J. C., Protein and cell membrane iodination with a sparingly soluble chloramide 1,3,4,6 tetrachloro-3,6 diphenylglycoluril, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* (1978), 80, 849-857.
4. Buchegger, F., Pelegrin, A., Delaloye, B., Bischof-Delaloye, A., Mach, J.P., Iodine-131-labelled AbM F(ab')<sub>2</sub> fragments are more efficient and less toxic than intact anti CEA antibodies in radioimmunotherapy of large human colon carcinoma grafted in nude mice, *J. Nucl. Med.* (1990) 31, 1035-1044.
5. Bogard, W.C., Dean, Jr.R.T., Deo, J., Fuchs, R., Mattis, J.A., McLean, A.A., Berger, H.J., Practical consideration in the production, purification and formulation of monoclonal antibodies for immunoscintigraphy and immunotherapy, *Seminar Nuclear Medicine*, 19, July, Malvern (1989), 202-220.

## DISKUSI

### Dudu Hidayat:

Karena minimal penandaan yang baik adalah 8 jam, bagaimana saran anda untuk klinisi dimana jam kerja bagian Kedokteran Nuklir di Indonesia hanya sampai jam 13.00

### Nurlaila B. Setiawan:

Penelitian ini dilakukan di CIS-BIO International, Scalay dan di Rumah Sakit Centre Rene Huguenin, Saint Cloud Perancis, dimana penatahan bisa dilakukan 8 jam setelah penyuntikan karena data tersebut bisa diambil oleh petugas yang selanjutnya, (dalam pergantian petugas) karena aktivitas rumah sakit sampai jam 17.00 - 18.00. Untuk di Indonesia, kalau memang kita ingin menggalakkan bidang Kedokteran Nuklir, alangkah baiknya kita juga melakukan *shift/* pergantian petugas sehingga pengambilan data/penatahan dapat dilakukan.

### Swasono R. Tamat:

AbM dinyatakan sangat spesifik pada antigen tertentu, apalagi F(ab')<sub>2</sub>. Tapi dinyatakan juga bahwa dapat untuk pemeriksaan kanker hati. Bagaimana penyaji menerangkan hal ini?

### Nurlaila B. Setiawan:

Spesifik di sini artinya bahwa AbM ini hanya terfiksasi pada antigennya; dalam hal ini antigen karsino embrionik (CEA). Pada kanker hati selain mensekresikan AFP (alpha foetoprotein) juga mensekresikan CEA sehingga dapat digunakan untuk diagnosis kanker hati walaupun barangkali bila digunakan AbM anti AFP bertanda radioaktif akan diperoleh hasil yang lebih baik karena jumlahnya (AFP) lebih besar dibandingkan jumlah CEA.