

NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHẾ PHỨC KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG NIMOTUZUMAB GẮN ĐỒNG VỊ PHÓNG XẠ I-131 DÙNG TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

NGUYỄN THỊ THU, VÕ THỊ CẨM HOA, NGUYỄN THỊ KHÁNG GIANG,
DƯƠNG VĂN ĐÔNG, NGUYỄN THỊ HẰNG
Viện Nghiên cứu hạt nhân, Đà Lạt, Việt Nam
MAI TRỌNG KHOA - Bệnh Viện Bạch Mai
NGUYỄN LĨNH TOÀN, HỒ ANH SƠN - Học Viện Quân Y

TÓM TẮT

Báo cáo này mô tả quy trình đánh dấu iod phóng xạ với kháng thể đơn dòng nimotuzumab để điều chế dược chất phóng xạ ^{131}I -nimotuzumab dùng trong điều trị ung thư. Nimotuzumab là kháng thể đơn dòng kháng thụ thể tăng trưởng biểu bì người theo cơ chế cạnh tranh với EGF (yếu tố tăng trưởng biểu bì). Kháng thể được đánh dấu với đồng vị phóng xạ ^{131}I bằng phương pháp chloramin T. Phức miễn dịch phóng xạ được kiểm tra chất lượng, phân bố sinh học và đánh giá độc tính phóng xạ trên chuột thực nghiệm với liều ^{131}I -nimotuzumab 84, 252 và 840 MBq/mg. Kết quả cho hiệu suất đánh dấu đạt hơn 95%, độ tinh khiết hóa phóng xạ trên 99%. Thuốc đạt các chỉ tiêu về thử vô khuẩn, nội độc tố vi khuẩn, ổn định invitro và phân bố đặc trưng trên hệ tưới máu, an toàn trên mô, tế bào chuột thực nghiệm với các liều điều trị. Thử độc tính phóng xạ trên chuột thực nghiệm quan sát có sự tăng và giảm nhẹ các chỉ số huyết học, sinh hóa, chụp hình vi thể tế bào các mô. Thuốc phóng xạ đạt các yêu cầu dược chất phóng xạ điều trị lâm sàng, ứng dụng trong điều trị ung thư đầu cổ trong nước bằng liệu pháp miễn dịch phóng xạ.

Từ khóa: Miễn dịch phóng xạ, ^{131}I -nimotuzumab, kiểm tra chất lượng dược chất phóng xạ.

SUMMARY

STUDY ON THE PREPARATION OF RADIOLABELED MONOCLONAL ANTIBODY ^{131}I -NIMOTUZUMAB FOR CANCER THERAPY

This report describes the radioiodination process of nimotuzumab monoclonal antibodies to prepare ^{131}I -nimotuzumab radiopharmaceutical for cancer therapy. Nimotuzumab is a monoclonal antibody anti epidermal growth factor receptor in the mechanism of competition with EGF (epidermal growth factor). Antibodies are labeled with radioisotope ^{131}I using chloramin T method. Radioimmunoconjugate were quality control, biodistribution and radiotoxicity evaluation in experimental mice after intravenous (iv) with either 84, 252 or 840 MBq/mg of ^{131}I -nimotuzumab and were followed within 30 days. The results showed that radiolabeling efficacy was more than 95%, radiochemical purity of the radiopharmaceutical was more than 99%. The product has been passed the test for sterility, bacterial endotoxin, invitro stability, distribution system characteristics on blood flow and tissue and cells safety evaluation in mice with therapeutic doses. Tests for radiotoxicity showed that minimal to slight of increase hematological, biochemical analyses and microscopic examinations of tissues were observed. Radiopharmaceutical ^{131}I -nimotuzumab was reached requirements for clinical

use, begins to treatments for head and neck cancer by radioimmunoassay method in the country.

Keywords: radioimmunotherapy, ^{131}I -nimotuzumab, quality control of radiopharmaceuticals.

MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, kháng thể đơn dòng đánh dấu phóng xạ đã được nghiên cứu điều chế và ứng dụng trong chẩn đoán và điều trị lâm sàng. Trong số đó, chế phẩm ^{131}I -nimotuzumab gồm kháng thể đơn dòng kháng thụ thể EGFR [1] đánh dấu đồng vị phóng xạ ^{131}I là một trong những dược chất phóng xạ được nghiên cứu sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Nhiều loại ung thư có thụ thể tăng trưởng biểu bì dương tính (EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor). Thụ thể này thường liên quan tới ung thư biểu mô do đột biến hoặc tăng bộc lộ gây tình trạng tăng sinh quá mức của tế bào. Đây chính là yếu tố đích hấp dẫn trong trị liệu đích bằng kháng thể đơn dòng kháng EGFR. Nimotuzumab là kháng thể đơn dòng kháng thụ thể tăng trưởng biểu bì người theo cơ chế cạnh tranh với EGF (yếu tố tăng trưởng biểu bì) làm giảm chuyển hóa và chết tế bào bệnh [4]. Kháng thể kháng EGFR - nimotuzumab được gắn với đồng vị phóng xạ ^{131}I bằng phương pháp đánh dấu phóng xạ sử dụng chloramin T làm chất oxy hóa. Kháng thể đánh dấu được tinh chế và kiểm tra chất lượng theo tiêu chuẩn của thuốc phóng xạ để sử dụng lâm sàng. Đây là dược chất phóng xạ dùng trong điều trị ung thư đầu cổ bằng kỹ thuật RIT.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu, hoá chất: Đồng vị phóng xạ ^{131}I dạng Na^{131}I sản xuất tại Viện Nghiên cứu hạt nhân, nồng độ phóng xạ 100-200 mCi/ml. Kháng thể nimotuzumab, 50mg/10ml, hãng CIMAB, Cuba. Công thức phân tử $\text{C}_{6566}\text{H}_{10082}\text{N}_{1746}\text{O}_{2056}\text{S}_{40}$, trọng lượng phân tử 150.000 g/mol. Hoá chất chloramin T, natri metabisulphite mua từ hãng Sigma Aldrich. Thiết bị sử dụng là máy điện di, máy quét Bioscan, máy đo phóng xạ Capintec.

Phương pháp đánh dấu kháng thể nimotuzumab với đồng vị phóng xạ I-131: Đây là phương pháp được giới thiệu bởi Hunter và Greenwood [5] để đánh dấu các hợp chất sinh học với chất phóng xạ iod. Kháng thể được đánh dấu với ^{131}I trong môi trường đệm photphat 0,5 M, pH 7,5. Các nghiên cứu khảo sát thực hiện với hàm lượng ChT từ 10 mg đến 100 mg, pH 5, 6, 7, 8, 9, hàm lượng kháng thể từ 1 đến 200 mg, thời gian phản ứng 1 đến 60 phút. Các mẫu kháng thể đánh dấu phóng xạ được phân tích bằng sắc ký lớp mỏng TLC trong dung môi methanol và NaCl 0,9% theo tỉ lệ 85:15.

Kiểm tra chất lượng ^{131}I - nimotuzumab: Phức ^{131}I -nimotuzumab được kiểm tra chất lượng bằng

phương pháp sắc lý lớp mỏng, sắc ký lọc gel. Kiểm tra chất lượng sinh học thử theo Dược điển Việt Nam IV, phụ lục 13.2 [6]. Thử vô khuẩn bằng phương pháp cấy thuốc vào môi trường thioglicolat ủ ở nhiệt độ 30 - 35°C, môi trường soya - bean casein digest ủ ở nhiệt độ 20 - 25°C, quan sát 14 ngày liên tục. Thử nội độc tố vi khuẩn bằng phương pháp kết tụ gel dùng kit LAL (Limulus Amebocyte Lysate) [6] và máy đo PTS 100 của hãng Charles River Laboratory, Mỹ.

Kiểm tra phân bố thuốc trên động vật: Tiêm vào tĩnh mạch đuôi mỗi con chuột 100 ml ^{131}I - nimotuzumab (100 mCi) [7], mỗi nhóm 5 chuột, giết và mổ theo các khoảng thời gian 5 phút, 60 phút, 6 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 8 ngày. Lấy các cơ quan nội tạng như gan, lách, thận, tim, máu và tuyến giáp cân và đo đếm phóng xạ, tính phân bố theo ID%/g.

Đánh giá độc tính phóng xạ của ^{131}I - nimotuzumab trên chuột: Chuột chia 10 nhóm, mỗi nhóm 5 con. Nhóm đối chứng được tiêm tĩnh mạch đuôi 100 l NaCl 0,9%. Chuột nhóm thực nghiệm tiêm liều 1,85 MBq, 5,55 MBq, 18,5 MBq ^{131}I - nimotuzumab và 500 mg nimotuzumab [8]. Chuột được theo dõi thể trạng và mổ sau khi tiêm 3 ngày và 30 ngày. Chuột được theo dõi sức khỏe, công thức máu, men gan và chụp hình vi thể tế bào các mô của các cơ quan như gan, thận, lách, phổi, tim.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

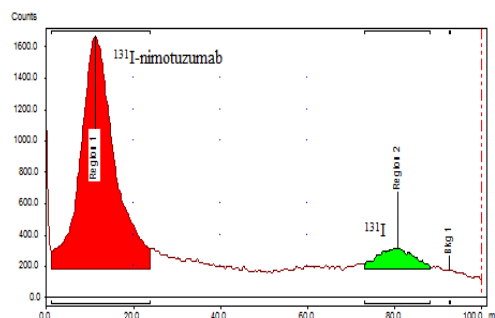
Kết quả đánh dấu kháng thể nimotuzumab với đồng vị phóng xạ ^{131}I dùng chloramin T: Kết quả khảo sát quy trình đánh dấu cho thấy hàm lượng ChT tham gia trong phản ứng là khoảng 20 mg để oxy hóa 2 mCi ^{131}I . Hàm lượng kháng thể có mặt trong sự oxy hóa của chloramin T là khoảng 100 mg. Phản ứng đánh dấu đạt hiệu suất cao nhất ở pH 7- 7,5, đây là miền pH có thể bảo vệ kháng thể ổn định trong quá trình bảo quản và điều trị trên con người. Thời gian phản ứng là 10 phút, thời gian này đủ nhanh để các phân tử tiếp xúc nhau, phản ứng nhanh và người thực hiện có thể kết thúc phản ứng. Kết quả cho phản ứng đạt hiệu suất cao 95 - 96% và phương pháp đánh dấu ổn định (bảng 1).

Bảng 1: Kết quả khảo sát quá đánh dấu nimotuzumab với ^{131}I bằng phương pháp chloramin T

Hàm lượng chloramin T (mg)	10	20	40	60	80	100
Hiệu suất đánh dấu (%)	75	95	96,7	96,7	96,9	97,2
Hàm lượng kháng thể (mg)	1	10	50	100	150	200
Hiệu suất đánh dấu (%)	57,8	89	95	95,5	95,7	96
Thời gian phản ứng	1	5	10	20	30	60

(phút)	62	93,5	95,5	95,6	94,5	89,2
Hiệu suất đánh dấu (%)	4	5	6	7	8	9
pH	62,2	57,5	91,2	95,8	95,1	82,3
Hiệu suất đánh dấu (%)						

Hình 1 là đồ thị điển hình trong quá trình khảo sát. Phức ^{131}I - nimotuzumab nằm tại miền 1 (Rf=0), ^{131}I tự do di chuyển về phía miền 2 (Rf=1) trên băng sắc ký.

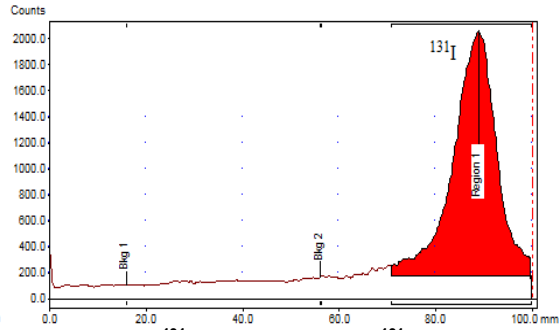
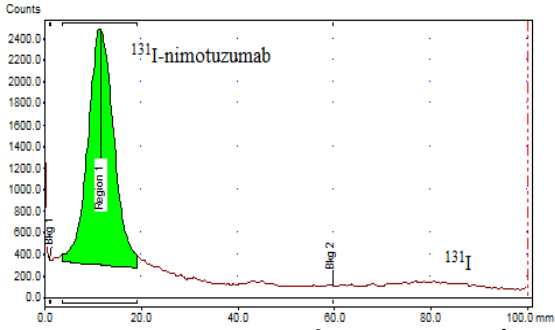


Hình 1: Đồ thị kiểm tra hiệu suất đánh dấu nimotuzumab với I-131

Quy trình đánh dấu kháng thể nimotuzumab với đồng vị phóng xạ dùng chất oxy hóa chloramin T: Kháng thể đánh dấu ^{131}I trong môi trường đệm photphat 0,5 M, pH 7,4. Cho vào chai phản ứng 100 μl đệm photphat, 200 μl nimotuzumab (5 mg/ml), 100 μl ^{131}I có hoạt độ 740 MBq, thêm 100 μl ChT (2 mg/ml). Lắc trộn nhẹ trong 10 phút cho phản ứng xảy ra. Sau đó, cho 100 μl $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (4 mg/ml) vào, trộn nhẹ 30 giây. Hỗn hợp phản ứng được nạp cột sephadex PD10 và tách, thu phân đoạn sản phẩm, đo hoạt độ phóng xạ, lọc qua pin lọc vô trùng 0,2 mm và bảo quản thuốc ở điều kiện lạnh.

Tinh sạch ^{131}I - nimotuzumab: Phức hợp ^{131}I -nimotuzumab được tách ra khỏi ^{131}I tự do bằng phương pháp sắc ký lọc gel dùng sephadex G-25. Hỗn hợp phản ứng có chứa phức hợp miễn dịch phóng xạ ^{131}I -nimotuzumab được tinh sạch qua cột sắc ký lọc gel sephadex G25, PD10. Chất rửa giải là đệm photphat 0,2 M, pH 7,2.

Kết quả kiểm tra độ tinh khiết hóa phóng xạ ^{131}I -nimotuzumab: Độ tinh khiết hóa phóng xạ đạt hơn 99%, được kiểm tra theo phương pháp sắc ký lớp mỏng, sắc ký điện di (hình 2). Đồng vị phóng xạ ^{131}I tự do di chuyển về tuyến trên của dung môi.



Hình 2: Kiểm tra độ tinh khiết hóa phóng xạ của ^{131}I -nimotuzumab và ^{131}I

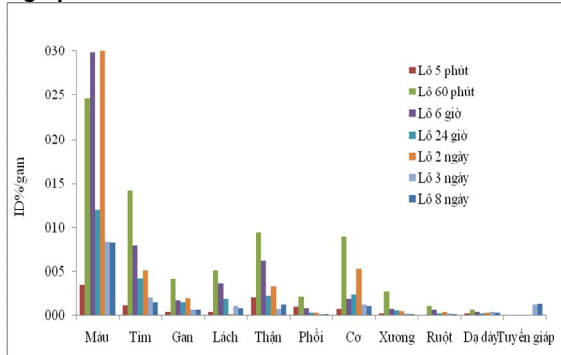
Trên hình 2, bằng sắc ký được quét trên máy Bioscan, kết quả là phức ^{131}I -nimotuzumab tại nằm tại vị trí $R_f = 0,0 - 0,1$.

Nghiên cứu phân bố sinh học trên chuột thu được kết quả sau (bảng 2).

Bảng 2: Phân bố sinh học ^{131}I -nimotuzumab trên chuột (ID%/g, n=5)

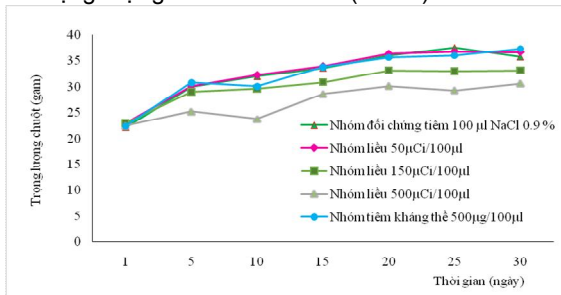
Cơ quan	5 phút	60 phút	6 giờ	24 giờ	2 ngày	3 ngày	8 ngày
Máu	1,610 $\pm 1,472$	24,569 $\pm 8,187$	29,788 $\pm 12,057$	18,981 $\pm 6,361$	35,691 $\pm 14,049$	8,322 $\pm 3,719$	8,249 $\pm 5,265$
Tim	1,042 $\pm 0,932$	14,113 $\pm 7,636$	7,962 $\pm 4,083$	4,192 $\pm 1,446$	5,108 $\pm 0,711$	2,050 $\pm 0,128$	1,433 $\pm 0,463$
Gan	0,368 $\pm 0,282$	4,162 $\pm 1,553$	1,732 $\pm 0,776$	1,367 $\pm 1,105$	1,921 $\pm 0,192$	0,595 $\pm 0,041$	0,588 $\pm 0,355$
Lách	0,341 $\pm 0,378$	5,143 $\pm 3,114$	3,588 $\pm 2,398$	1,852 $\pm 1,575$	0,103 $\pm 0,014$	0,969 $\pm 0,060$	0,712 $\pm 0,175$
Thận	2,024 $\pm 1,804$	9,441 $\pm 4,905$	6,186 $\pm 3,351$	2,192 $\pm 1,188$	3,290 $\pm 0,458$	0,664 $\pm 0,041$	1,172 $\pm 0,331$
Phổi	0,879 $\pm 0,164$	2,105 $\pm 1,481$	0,733 $\pm 0,653$	0,247 $\pm 0,180$	0,304 $\pm 0,037$	0,121 $\pm 0,010$	0,094 $\pm 0,055$
Cơ	0,683 $\pm 0,888$	8,916 $\pm 6,585$	1,879 $\pm 0,849$	2,340 $\pm 2,259$	5,306 $\pm 1,243$	1,187 $\pm 0,148$	1,026 $\pm 0,611$
Xương	0,191 $\pm 0,175$	2,651 $\pm 2,090$	0,645 $\pm 0,417$	0,527 $\pm 0,396$	0,448 $\pm 0,109$	0,164 $\pm 0,023$	0,132 $\pm 0,079$
Ruột	0,042 $\pm 0,025$	0,965 $\pm 0,430$	0,614 $\pm 0,426$	0,216 $\pm 0,209$	0,350 $\pm 0,092$	0,188 $\pm 0,052$	0,119 $\pm 0,076$
Dạ dày	0,144 $\pm 0,106$	0,617 $\pm 0,452$	0,325 $\pm 0,127$	0,147 $\pm 0,122$	0,258 $\pm 0,035$	0,352 $\pm 0,051$	0,291 $\pm 0,201$

Kết quả phân bố sinh học trên chuột cho thấy phức hợp phóng xạ ^{131}I -nimotuzumab phân bố cao trong máu ngay sau khi tiêm. Khoảng 35% liều tiêm/gam tập trung trong máu, thận khoảng gần 10%, ít tập trung trong gan, tuyến giáp. Thuốc đào thải ra khỏi máu sau khoảng 1 tuần và bài tiết qua thận nhanh (hình 3).



Hình 3: Phân bố sinh học ^{131}I -nimotuzumab trên chuột. Kết quả đánh giá độc tính phóng xạ của ^{131}I -nimotuzumab trên chuột:

Thể trạng và trọng lượng: Chuột nhóm đối chứng và nhóm thực nghiệm được theo dõi thể trạng và cân nặng. Sau khi tiêm 60 phút các nhóm không phát hiện thấy biểu hiện kích thích, co giật, tiêu chảy. Chuột các nhóm ăn uống tốt, khỏe mạnh và nhanh nhẹn, không có sự diễn biến khác biệt về tình trạng toàn thân giữa các nhóm nghiên cứu. Diễn biến cân nặng có sự thay đổi trọng lượng theo biểu đồ sau (hình 4):



Hình 4: Diễn biến trọng lượng chuột thí nghiệm sau khi tiêm 30 ngày

Đồ thị cho thấy trọng lượng trung bình của chuột nhóm đối chứng và các nhóm thực nghiệm tăng giống như nhau ở các nhóm tiêm liều điều trị từ 1,85 MBq (50 mCi), 5,55 MBq, (150 mCi), 18,5 MBq (500 mCi), nhóm liều tiêm cao gấp hơn 3 lần liều điều trị tối đa cho phép đó là 18,5 MBq cho thấy trọng lượng chuột tăng chậm hơn so với nhóm đối chứng và các nhóm khác, nhóm đối chứng sau 3 ngày tăng trung bình 2,36 g và sau 30 ngày tăng 13,64 g.

Công thức máu và men gan: Kết quả xét nghiệm công thức máu gồm các tế bào bạch cầu (WBC), tế bào hồng cầu (RBC) và tiểu cầu (PLT). Các chức năng cơ bản của gan cũng được đánh giá qua các nồng độ SGOT (glutamic oxaloacetic transaminase) và SGPT (glutamic pyruvic transaminase). Bảng 3 là kết quả xét nghiệm các chỉ số huyết học và sinh hóa của các nhóm chuột thí nghiệm.

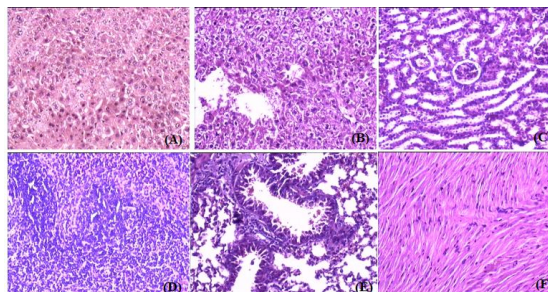
Bảng 3. Kết quả xét nghiệm công thức máu và men gan chuột thí nghiệm ($\bar{x} \pm SD$)

Nhóm chuột	RBC (M/ml)	WBC (K/ml)	PLT (K/mL)	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)
1	8,27±1,35	2,37±1,16	1076±63	150±94	60±39
2	9,08±1,05	1,76±0,76	1143±296	172±78	40±12
3	8,7±0,48	1,46±0,89	1061±377	168±88	47±13
4	8,69±0,49	1,11±0,75	1182±267	199±88	71±53
5	8,92±0,89	2,68±2,32	1048±145	152±66	40±16
6	12,07±1,17	1,01±0,41	988±152	137±40	35±12
7	10,68±1,38	1,76±1,13	880±204	199±110	53±20
8	9,73±0,90	2,01±1,52	954±131	148±54	65±35
9	10,26±0,90	1,95±1,02	880±166	196±133	80±45
10	10,71±1,18	1,11±0,93	697±201	196±232	101±51

Các thông số về huyết học và men gan cho thấy giữa nhóm đối chứng và nhóm bình thường không có biểu hiện khác biệt nhiều. Số lượng hồng cầu trong máu ổn định trong khoảng 8,27 -12,07 M/ml, không thấy sự khác biệt về số lượng hồng cầu giữa các nhóm chuột thí nghiệm tại các thời điểm 3 ngày và 30 ngày và đối chứng. Số lượng bạch cầu nằm trong phạm vi bình thường từ 1,01-2,37 K/ml, không có sự khác biệt đáng kể với các nhóm đối chứng, kể cả nhóm tiêm liều cao như nhóm 9. Nồng độ men gan SGOT, SGPT trong máu ổn định trong quá trình thực nghiệm, tuy nhiên các nhóm sau 30 ngày thực nghiệm có nồng độ men gan cao hơn một ít so với nhóm đối chứng. Kết quả cho thấy gan không bị tổn thương hay hư hại, vì các enzyme aspartate aminotransferase (AST) và alanine aminotransferase (ALT) trong tế bào gan nếu gia tăng cao sẽ tràn vào trong máu, sự tăng mức độ enzyme trong máu đó là dấu hiệu gan bị bệnh.

Kết quả chụp vi thể tế bào các mô:

Các mô của nhóm chuột đối chứng và nhóm chuột tiêm ^{131}I -nimotuzumab liều cao và nhóm chuột tiêm nimotuzumab cho thấy tiểu thùy gan có cấu trúc rõ ràng, nhân đồng nhẹ, có thoái hóa mỡ nhẹ, có tăng sinh tái tạo tế bào gan mức nhẹ ở các nhóm, mô gan bình thường (hình 4, A và B), như vậy nhóm chuột liều cao gan có tổn thương nhẹ, không có thương nghịch sản tế bào gan, không có ung thư gan.



Hình 5: Hình ảnh vi thể tế bào (nhuộm Hematoxylin - Eosin x 200)

- (A) Tế bào gan nhóm đối chứng
- (B) Tế bào gan nhóm liều cao
- (C) Tế bào thận nhóm liều cao
- (D) Tế bào lách nhóm liều cao
- (E) Tế bào phổi nhóm liều cao
- (F) Tế bào tim nhóm liều cao

Thận rõ cấu trúc các vùng vỏ và tủy, mô thận bình thường, không hoại tử ống thận, cầu thận không viêm, không xơ hóa (4C). Các mô lách của chuột đều trong giới hạn bình thường, không viêm, không hoại tử (4D). Phổi trong giới hạn bình thường, không hoại tử phổi, không xuất huyết nhu mô phổi (4E). Các tế bào cơ vân tim rõ cấu trúc, giới hạn bình thường, không hoại tử cơ tim, không viêm cơ tim (4F). Nhìn chung, các cơ quan trên không có hư hại nào trong các nhóm liều thấp và cả liều cao.

KẾT LUẬN

Bằng phương pháp đánh dấu kháng thể nimotuzumab với đồng vị phóng xạ ^{131}I dùng chất oxy hóa chloramin T, phức miễn dịch phóng xạ ^{131}I -nimotuzumab dùng trong điều trị ung thư đầu cổ đã được nghiên cứu điều chế. Với nhiều ưu điểm như phản ứng nhanh, dễ thực hiện, hàm lượng chloramin T dùng trong phản ứng đánh dấu rất bé, trong khoảng 200 mg chloramin T để oxy hóa từ 740 MBq ^{131}I . Thời gian phản ứng đánh dấu nhanh 10 phút. Phản ứng đánh dấu đạt hiệu suất cao 95 - 96 % tại pH 7,0 và phương pháp đánh dấu ổn định. Phức hợp miễn dịch thu được đạt độ tinh khiết hoá phóng xạ và các chỉ tiêu kiểm tra chất lượng thuốc phóng xạ như độ vô khuẩn, nội độc tố vi khuẩn. Các đánh giá tiền lâm sàng như phân bố sinh học ^{131}I -nimotuzumab trong các mô cho kết quả phân bố cao trong hệ tưới máu, các nghiên cứu về độc tính phóng xạ trên chuột thực nghiệm đối với các chỉ số huyết học, sinh hóa, các xét nghiệm vi thể tế bào các mô gan, thận, phổi, lách, tim cho kết quả ổn định giữa các nhóm thực nghiệm điều trị và các nhóm đối chứng theo các thời gian 3 ngày và 30 ngày theo dõi. Các kiểm tra chất lượng hóa lý và sinh học của ^{131}I -nimotuzumab cho thấy phức miễn dịch phóng xạ ^{131}I -nimotuzumab đạt tiêu chuẩn chất lượng thuốc phóng xạ dùng trong lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Denis Rolando Beckford Vera, Sebastian Eigner, Milos Beran, Katherina Eigner Henke, Alice Laznickova, Milan Laznicez, Frantisek Melichar, and Marco Chinol "Preclinical evaluation of ^{177}Lu -nimotuzumab: a potential

tool for radioimmunotherapy of Epidermal Growth Factor Receptor over expressing tumors, *cancer Biotherapy and radiopharmaceuticals*, vol. 26 No. 3, (2011).

2. Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh, *Chuyên đề ung bướu, Hội thảo Phòng chống ung thư TP Hồ Chí Minh lần thứ 13*, phụ bản tập 14, số 4 (2010).

3. Herbst RS "Review of epidermal growth factor receptor biology". *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 59, (2004).

4. Ariel Talavera, Rosmarie Friemann, Silvia Gómez-Puerta, et al: *Nimotuzumab, an Antitumor Antibody that Targets the Epidermal Growth Factor Receptor, Blocks Ligand Binding while Permitting the Active Receptor Conformation-*. *Cancer Res* (2009).

5. Bolton, A. E., and Hunter, W. M. *The labelling of proteins to high specific activities by conjugation to a 125-I-containing acylating agent*. *Biochem. J.* 133, 529-538, (1973).

6. Bộ Y tế, *Dược điển Việt Nam*. Lần xuất bản thứ tư. Hà Nội (2009).

7. Gopal B. Saha. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. Sixth Edition. Springer, (2012).

8. Emil Schüler, Toshima Z Parris, Nils Rudqvist, Khalil Helou and Eva Forssell-Aronsson. *Effects of internal low-dose irradiation from 131I on gene expression in normal tissues in Balb/c mice*. Published online 2011 November 28. doi: 10.1186/2191-219X-1-29 PMID: PMC3251037 EJMAMI Res. 2011