

ساخت و نشاندارسازی میکروذرات چیتوزان با تکنسیم-۹۹ به منظور استفاده تشخیصی

در ریه

سمیرا، رسانه*؛ فریبا، جوهری ده‌ا؛ صالح، صالحی ذهابی

سازمان انرژی اتمی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کاربرد پرتوها

چکیده:

اسکن پرفیوژن ریه، در پزشکی هسته‌ای به کمک آلبومین ماکروآگرگیته- ^{99m}Tc که ذراتی نشاندار است انجام میشود. در این تحقیق میکروذرات چیتوزان ساخته و بعد از خالص سازی با تکنسیم نشاندار شد. کلیه تستهای کنترل کیفی اعم از تعیین سائز ذرات، درصد نشاندارسازی، پایداری در بافر، بررسی توزیع بیولوژیکی در بدن موش و تصویربرداری با سیستم پزشکی هسته‌ای برای آن انجام شد. اندازه ذرات ۹۰-۱۱۰ میکرون، درصد نشاندارسازی $94 \pm 3\%$ ، پایداری بالا در بافر و تجمع بسیار خوب در ریه‌ها نشان داد که این ترکیب نشاندار احتمالاً میتواند یک کاندیدای امیدوارکننده برای کاربرد تشخیصی در اسکن پرفیوژن ریه بکار گرفته شود.

کلیدواژه: چیتوزان، پرفیوژن ریه، آلبومین ماکروآگرگیته- ^{99m}Tc ، تکنسیم

مقدمه

اسکن پرفیوژن ریه، جهت بررسی خونرسانی نسج ریه بکار می‌رود. هر عاملی که باعث کاهش خونرسانی نسج ریه شود، به صورت نقص پرفیوژن در اسکن مشاهده خواهد شد [۱]. از شایع‌ترین کاربردهای آن اثبات یا رد آمبولی ریه در بیمارانی می‌باشد که به دنبال اعمال جراحی، دچار علائم حاد تنفسی می‌شوند. معمولاً اسکن پرفیوژن ریه در این موارد به همراه اسکن ونتیلایسیون ریه انجام می‌شود ولی در اغلب مراکز به دلیل موجود نبودن رادیو داروی مناسب برای اسکن ونتیلایسیون ریه، اسکن پرفیوژن به تنهایی و مقایسه آن با رادیوگرافی ساده ریه از دقت تشخیصی قابل قبولی برخوردار می‌باشد. کاربرد دیگر آن بررسی کمی میزان پرفیوژن هر یک از لوب‌ها و یا سگمان‌های ریه می‌باشد که قبل از عمل جراحی برداشتن قسمتی از ریه، از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. این اسکن نیاز به آمادگی خاصی ندارد و تصویربرداری بلافاصله بعد از تزریق انجام می‌شود [۲].

در حال حاضر برای تصویربرداری پرفیوژن ریه از آلبومین ماکروآگرگیته- ^{99m}Tc (MAA) بوسیله گرم نمودن مخلوطی از آلبومین سرم انسانی (HAS) و کلرید قلع یا تارتارات در بافر استات (PH = ۰)، در 80°C تا 80°C

۹۰ به مدت ۳۰ دقیقه تهیه می شود. سپس ذرات جهت جداسازی هرگونه یون قلع و معلق در سالیان با سالیان شسته می شود. شکل ذرات غیر منظم بوده و اندازه ذرات از بین ۱۰-۱۵۰ میکرومتر است. کیتها قبل از نشاندار کردن با ^{99m}Tc با $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ نگهداری شوند. بعضی از کیتها در $20-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ قابل نگهداری هستند. تهیه MAA- ^{99m}Tc با بکار بردن یک کیت تجارتي مستلزم گرم نمودن اولیه ویال تا حد دمای اتاق و به دنبال آن افزایش $^{99m}\text{TcO}_4$ است. در بعضی از کیتها لازم است ویالها به مدت ۲ تا ۱۵ دقیقه برای حداکثر چسبندگی بمانند. بازدهی نشاندار سازی در حدود ۹۰ درصد است. تهیه مواد برای ۶ تا ۸ ساعت خوب است و باید پس از تشکیل در $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ نگهداری شوند [۲].

چیتوزان یک پلیمر با نام علمی $\beta\text{-D (1-4) N-acety- glucosamine}$ ، به دلیل داشتن خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاص همواره در پزشکی مد نظر بوده است [۳، ۴]. داشتن خصوصیات انبساط و کشیدگی شدید، خاصیت ضد ویروسی و ضد باکتریایی، غیر سمی و غیر آلرژیک بودن، عدم حلالیت در آب، قدرت بالا در جذب مواد رنگی و خاصیت ژله ای شدن برخی از ویژگی های فیزیکی و شیمیایی چیتوزان است. به علت وجود برخی سختیها و مشکلات در شرایط ساخت و نگهداری $^{99m}\text{Tc}\text{-MAA}$ ، قصد شد تا از میکروذرات چیتوزان استفاده کرده و با تکنسیم نشاندار شده و بعد از انجام آزمونهای کنترل کیفی، قابلیت آن در تصویربرداری از ریه سنجیده شود.

روش کار

چیتوزان با درجه استیل زدائی ۸۵٪، سدیم تری پلی فسفات و اسید استیک از شرکت سیگما تهیه شد. تهیه نانوذرات چیتوزان خالص به روش ژله ای شدن (Ionotropic gelation) انجام شد. برای این منظور ۵ میلی لیتر از محلول چیتوزان در محلول اسید استیک دو درصد (۲ mg/mL) از چیتوزان به ۲ میلی لیتر از محلول سدیم تری پلی فسفات (۱ mg/mL) اضافه می شود. محلول کلوئیدی بدست آمده حاوی نانو ذرات چیتوزان است. بعد از شستشو با کمک فیلتر کردن و سانتریفیوژ ذرات در محدوده ۹۰-۱۱۰ میکرون جدا شدند.

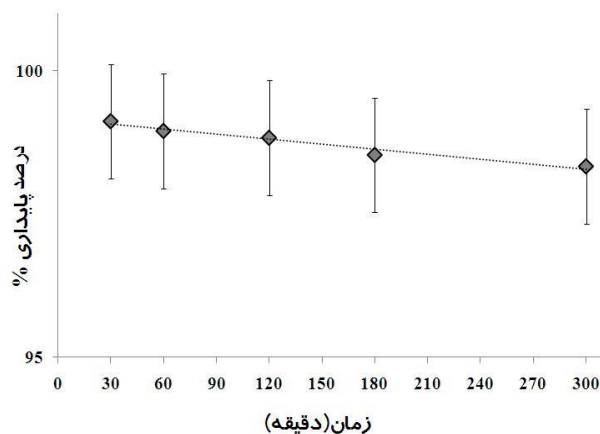
تعیین اندازه ذرات: پس از تهیه اندازه نانوذرات و پتانسیل زتا توسط دستگاه زتا سایزر مالورن اندازه گیری شد. همچنین ابعاد نانوذرات در حالت خشک با میکروسکوپ الکترونی (TEM) تعیین شد.

بازده نشاندارسازی: توسط TLC با استفاده از نوارهای واتمن شماره ۱ به عنوان فاز ثابت و در بافر سالیان به عنوان حلال ارزیابی گردید.

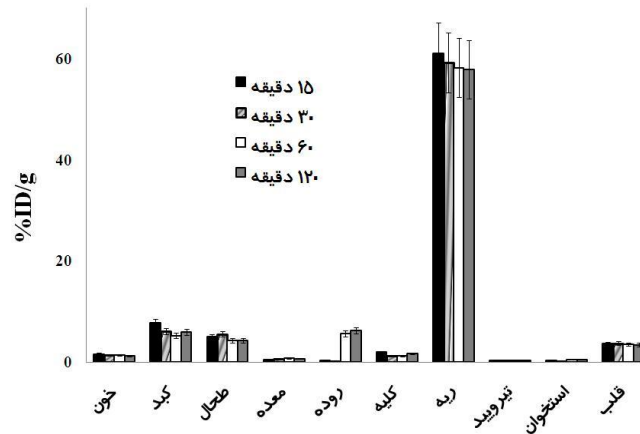
پایداری کمپلکس: از کمپلکس هرسپتین-تکنسیم در زمانهای های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۳۰۰ دقیقه بعد نشاندارسازی نمونه هایی (۳۷۰ KBq) برداشته و بازده نشاندارسازی به روش TLC ارزیابی گردید. توزیع بیولوژیکی: جهت بررسی توزیع بیولوژیکی از ۲۰ موش سالم BALB/c با سن ۶-۸ هفته و وزن ۳۵g-۲۵ استفاده و به هر کدام تقریباً $100 \mu\text{l} / 9 \text{ MBq}$ از چیتوزان-تکنسیم از طریق دم تزریق گردید. موش ها در زمانهای ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد تزریق، کشته و بافت های مختلف آنها جداسازی و درصد اکتیویته به ازای هر گرم بافت (ID/g%) در سیستم HPGe اندازه گیری گردید. تصویربرداری: جهت تصویربرداری به ۶ تا موش سالم BALB/c با سن ۶-۸ هفته و وزن ۳۵g-۲۵، $100 \mu\text{l} / 9 \text{ MBq}$ از چیتوزان-تکنسیم تزریق و بعد ۱۵ دقیقه، با سیستم تصویربرداری پزشکی هسته ای تصاویر استاتیک با کولیماتور (LEHR (Low Energy High Resolution) و در ابعاد 512×512 با شمارش ۳۰۰ کیلو کانت بر پیکسل گرفته شد.

نتایج

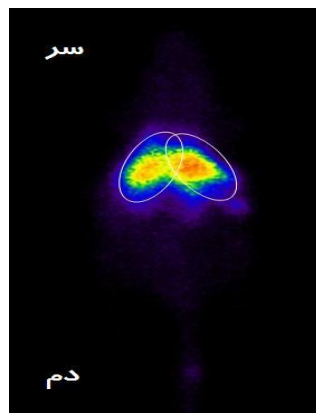
اندازه ذرات باسیستم DLS در محیط آبی و شکل ذرات به کمک میکروسکوپ الکترونی تعیین شد. اندازه ذرات بین ۹۰-۱۱۰ میکرون و به شکل تقریباً کروی بدست آمد. بازده نشاندارسازی کمپلکس ۶۰ دقیقه پس از انکوباسیون بیشتر از $94 \pm 3\%$ بدست آمد. نتایج بررسی پایداری در شکل ۱ نمایش داده شده است. پایداری این ترکیب نشاندار تا ۳۰۰ دقیقه بعد از نشاندارسازی در حدود ۹۸٪ بدست آمد. نتایج مربوط به توزیع بیولوژیکی کمپلکس در بدن موش سالم در شکل ۲ نمایش داده شده است. همانطور که انتظار میرفت تجمع کمپلکس نشاندار در ریه ها بالا و در حد قابل قبول است. تصویربرداری از موش ۱۵ دقیقه بعد از تزریق چیتوزان-تکنسیم به کمک سیستم پزشکی هسته ای انجام شد که تصویر یک موش نمونه در شکل ۳ نمایش داده شده است. مشخص شدن دو ریه در تصویر حکایت از جذب بالای دارو در داخل ریه دارد.



شکل ۱. پایداری *in vitro* میکرو ذرات چیتوزان-تکنسیم در بافر استات



شکل ۲. توزیع بیولوژیکی هرسپتین-تکنسیم در بدن موش سالم در زمانهای ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد تزریق



شکل ۳. تصویر پزشکی هسته ای از یک موش نمونه ۱۵ دقیقه بعد از تزریق چیتوزان-تکنسیم

بحث و نتیجه گیری

استفاده از ذرات نشاندار در تصویربرداری پرفیوژن ریوی بسیار متداول است. در حال حاضر در بخشهای پزشکی هسته ای برای این روش تصویربرداری از آلبومین ماکروآگرگیته- ^{99m}Tc استفاده میشود. در تحقیق حاضر از ذرات نشاندار چیتوزان در ابعاد محدودتر که با روشی بسیار ساده و سریع بدست میآید استفاده شد تا بتوان برآوردی از قابلیت این دارو و احیانا جایگزینی آن به جای آلبومین ماکروآگرگیته- ^{99m}Tc بدست آورد.



تنظیم سایز ذرات چیتوزان در ابعاد میکرو به راحتی با فیلترکردن و سانتریفیوژ قابل انجام است. در نهایت ابعاد ۹۰-۱۱۰ میکرون برای این منظور انتخاب شد. بازده نشاندارسازی بسیار بالا در حد ۹۴٪ و درصد پایداری بالا حتی ۵ ساعت بعد نشاندارسازی نتیجه بسیار امیدوار کننده ای برای این ترکیب بود. جذب بالا در ریه از همان ابتدای تزریق و عدم وجود اکتیویته در کلیه ها، معده و تیروئید نشان از پایداری قابل قبول برای این ترکیب بود که توسط تصویربرداری پزشکی هسته ای هم این نتیجه تایید شد. با توجه به نتایج بدست آمده میتوان نتیجه گرفت که میکروذرات چیتوزان نشاندار شده با تکنسیم احتمالاً میتواند کاندیدای خوبی جهت مطالعات پرفیوژن کبدی باشد که برای نتیجه گیری نهایی نیاز به مطالعات تکمیلی بیشتری است.

مراجع

1. Tiel-van B, Verzijlbergen JF, Ventilation-perfusion lung scintigraphy, imaging decions, JNM, ۵۹, ۴, ۱۲۴-۱۲۶, ۲۰۰۰.
2. Galie N, Torbicki A, Barst R, Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension: the Task Force on Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology, Eur Heart, ۲۵, ۲۲۴۳-۲۲۷۸, ۲۰۰۴.
3. Illum L, Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient, Pharm Res, ۱۵, ۹, ۱۳۲۶-۱۳۳۱, ۱۹۹۸.
4. Hawary DL, Motaleb MA, Farag H, Guirguis OW, Elsabee MZ. Lactosaminated N-succinyl-chitosan as a liver-targeted carrier of ^{99m}Tc in vivo for nuclear imaging and biodistribution, J Label Compd Radiopharm, ۵۴, ۱۰, ۶۶۴-۶۷۰, ۲۰۱۱.