مجله علوم، مهندسی و فناوری هسته‌ای، دوره ۴۵، شماره ۳، جلد ۱۰۹، پاییز ۱۴۰۳

Journal of Nuclear Science, Engineering and Technology
Vol. 45 (4), Serial Number 109, 2024

تهیه و بررسی ذرات آلبومین نشان‌دار شده با تکنسیم ۹۹ام جهت تصویربرداری از تومور گلیوما در موش

آزاده میکائیلی، ژیلا فلاح، مصطفی گودرزی، مصطفی عرفانی*
پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۳۴۸۶-۱۱۳۶۵، تهران- ایران

*Email: mgandomkar@aeoi.org.ir

مقاله‌ی پژوهشی
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۳/۲۲ تاریخ بازنگری مقاله: ۱۴۰۲/۵/۱۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۶/۱۱

چکیده

ذرات آلبومین به‌عنوان حامل رادیونوکلیدهای تشخیصی و یا درمانی در پزشکی هسته‌ای می‌توانند کاربرد داشته باشند. به همین منظور این ذرات با کمک حرارت تهیه شدند. پس از تعیین اندازه، ذرات با استفاده از رادیونوکلید گاما دهنده تکنسیم ۹۹ام در حضور عامل احیاءکننده کلرید قلع نشان‌دار شدند. خلوص رادیوشیمیایی به روش کروماتوگرافی تعیین گردید. پایداری ذرات نشان‌دار در محیط نرمال سالین و هم‌چنین مطالعات توزیع زیستی در موش نرمال و موش با تومور گلیوما بررسی شد. اندازه ذرات در محدوده کم‌تر از ۵۰ نانومتر تعیین شدند. خلوص رادیوشیمیایی بیش‌تر از ۹۸ درصد به دست آمد. ذرات نشان‌دار پایداری بیش از ۹۰ درصد را تا ۶ ساعت پس از نشان‌دارسازی در محلول‌های سالین و سرم انسانی نشان دادند. نتایج مطالعات توزیع زیستی جذب در کبد، طحال، تومور و هم‌چنین دفع بالا از کلیه‌ها را نشان داد. در تصویربرداری با دوربین گاما از موش، جذب در تومور و کلیه‌ها دیده شد. نتایج به دست آمده قابلیت کاربرد ذرات نشان‌دار شده به عنوان رادیوداروی تشخیصی برای تومور را اثبات کرد.

کلیدواژه‌ها: آلبومین، ذرات، تکنسیم-۹۹ام، تومور، تصویربرداری

Preparation and evaluation of Technetium-99m Labeled Albumin particles for glioma tumor imaging in rat

A. Mikaeili, Zh. Fallah, M. Goudarzi, M. Erfani*
Radiation Application Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 11365-3486, Tehran - Iran

Research Article
Received: 12.6.2023, Revised: 8.8.2023, Accepted: 2.9.2023

Abstract

Albumin particles are used in nuclear medicine as carriers of diagnostic and therapeutic radionuclides. Temperature was used to prepare these particles. After size determination, the particles were marked with gamma-irradiated radionuclide 99mTc in the presence of stannous chloride as a reducing agent. Chromatography methods analyzed radiochemical purity. For labeled particles, stability in normal saline and biodistribution in normal and glioma tumorized rats were investigated. The size of particles was determined below 50 nm. Radiochemical purity of more than 98% was obtained. Evaluation of labeled particle stability showed radiochemical purity of more than 90% during 6 hr in saline and human serum solutions. Biodistribution studies revealed liver and tumor uptake followed by high kidney washout. Gamma imaging scintigraphy in rats showed tumors and kidneys. The results confirmed the ability of marked particles as a tumor diagnostic radiopharmaceutical.

Keywords: Albumin, Particles, Technetium-99m, Tumor, Imaging

۱. مقدمه

آلبومین فراوان‌ترین پروتئینی است که در سرم خون انسان یافت می‌شود و حدود نیمی از پروتئین‌های سرم را تشکیل می‌دهد. آلبومین دارای نیمه‌عمر فیزیولوژیکی حدود ۱۹ روز است و شامل ۵۸۵ آمینو اسید می‌باشد. از این‌رو به واسطه گروه‌های عاملی فراوانی که دارد، ظرفیت اتصال به لیگاند بالایی داشته و در نتیجه یک حامل بسیار خوب برای بسیاری از ترکیبات در بدن انسان است. هورمون‌ها، اسیدهای چرب و بسیاری از ترکیبات دارویی در خون توسط آلبومین انتقال پیدا می‌کنند. آلبومین هم‌چنین این توانایی را دارد که pH خون را بافری کرده و فشار خون را حفظ نماید [۱-۵].

با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد آلبومین، این ترکیب یک ماده زیستی مناسب برای تهیه ذرات می‌باشد. ذرات آلبومین به دلیل ویژگی‌های مطلوب‌شان مانند زیست سازگاری، زیست تخریب‌پذیری، ایمنی‌زایی و سمیت سلولی کم‌تر در مقایسه با سایر ذرات، انتخاب مناسبی جهت انتقال دارو در پزشکی هستند [۶-۸]. ذرات آلبومین نشان‌دار شده با تکنسیم ۹۹ام در سایز میکرومتر (۲۰-۱۰۰) به علت بزرگی سایز ذرات و گیر افتادن در شبکه مویرگی ریه جهت تصویربرداری از خون‌رسانی به ریه استفاده می‌گردد. چنان‌چه ذرات آلبومین تهیه شده در اندازه‌های نانومتری باشند، می‌توان از آن‌ها به‌عنوان یک سیستم دارورسانی مؤثر در تومورها نیز استفاده کرد. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۶ به چاپ رسیده است، تهیه نانوذرات آلبومین حاوی داروی ضدسرطان پکلیتکسل مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه سایز ذرات تهیه شده بین ۱۴۳ تا ۱۷۰ نانومتر است. بررسی سمیت دارویی نشان از سمیت وابسته به دُز دارد و افزایش غلظت داروی ضدسرطان (قرار گرفته در نانوذرات آلبومینی) سبب افزایش مرگ سلولی در رده سلولی MCF-۷ می‌گردد [۹، ۱۰].

با توجه به ویژگی‌های ذکر شده از ذرات آلبومین و توانایی آن‌ها در اتصال هدفمند به سلول‌های سرطانی، نشان‌دارسازی این ذرات با رادیونوکلیدهای گاما دهنده و یا بتا دهنده، به تشخیص و درمان تومورها کمک شایانی خواهد کرد. یکی از رادیونوکلیدهای مورد استفاده برای اهداف تشخیصی، تکنسیم-۹۹ام است. رشد و کاربرد گسترده این رادیونوکلید تشخیصی در پزشکی هسته‌ای عمدتاً به دلیل در دسترس بودن آسان (از طریق سیستم ژنراتور قابل حمل مولیبدن ۹۹/تکنسیم ۹۹ام)، خواص هسته‌ای تقریباً ایده‌آل این رادیونوکلید ساطع‌کننده گاما و معرفی رادیوداروهای مفید بالینی تکنسیم ۹۹ام برای تصویربرداری بافت‌های مختلف بوده است. این رادیونوکلید به دلیل نیمه‌عمر کوتاه خود (۶ ساعت)، سبب می‌شود تا بیمار کم‌تر در معرض پرتوهای گاما قرار گیرد و در عین حال به دلیل پرتوهای گاما با انرژی مناسب (۱۴۰ کیلوالکترون ولت) امکان تصویربرداری مناسب را فراهم می‌کند [۱۱-۱۴].

در این پژوهش ذرات آلبومین با کمک حرارت دادن آلبومین تهیه شد و سایز مورد نظر از ذرات با استفاده از فیلتر به دست آمد. پس از بررسی سایز ذرات، نشان‌دارسازی آن‌ها به روش مستقیم به کمک ماده احیاءکننده که رادیونوکلید تکنسیم ۹۹ام را به حالت‌های اکسیداسیون کم‌تر برای ایجاد کمپلکس با عوامل الکترون‌دهنده در پروتئین آماده می‌کند، در حضور مقادیر مختلف از رادیونوکلید تکنسیم ۹۹ام انجام شد. مراحل کنترل کیفی بر روی ترکیب نشان‌دار شده شامل بازده نشان‌دارسازی، خلوص رادیوشیمیایی، پایداری در محیط سالین و سرم انسانی و توزیع بیولوژیکی ترکیب در موش نرمال انجام شد. با توجه به قابلیت تجمع ذرات در محل تومورها، نحوه توزیع زیستی ذرات نشان‌دار شده با تکنسیم ۹۹ام در موش دارای تومور گلیوما مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت از توزیع بیولوژیکی ذرات نشان‌دار در موش توموری، تصویربرداری صورت گرفت.

۲. روش کار

۱.۲ مواد و تجهیزات

سرم آلبومین (محلول آلبومین ۲۰٪) از شرکت Biotest، کلرید قلع و بقیه مواد و حلال‌ها از شرکت Merck تهیه شدند. تکنسیم ۹۹ام از ژنراتور مولیبدن ۹۹-تکنسیم ۹۹ام (شرکت پارس ایزوتوپ) در حلال نرمال سالین به دست آمد. جهت تصویربرداری، از دوربین تصویربرداری گاما از شرکت زیمنس و با سایز ماتریس ۲۵۶×۲۵۶ و موازی‌ساز با حساسیت بالا استفاده شد. جهت تعیین سایز ذرات از میکروسکوب الکترونی روبشی (SEM)[1] با مشخصات دستگاه ZEISS EVO۱۸ استفاده شد. دستگاه TLC اسکنر با مشخصات Mini GITA TLC Scanner استفاده شد. دستگاه گاما کانتر جهت شمارش میزان اکتیویته (EG&G/ORTEC) استفاده گردید.

1. Scanning Electron Microscope

۲.۲ تهیه ذرات آلبومین

ابتدا محلول آبی سرم آلبومین انسانی ۲٪ در حجم ۵ میلی‌لیتر تهیه شد و سپس محلول توئین ۲۰ به میزان ۱۰ میکرولیتر به آن اضافه گردید. مقدار ۵ میلی‌گرم آسکوربیک اسید همراه با مقدار ۵۰۰ میکروگرم از کلرید قلع به محلول بالا افزوده گردید. با اضافه کردن محلول فسفات بافر ۱ نرمال، pH بر روی ۵ تنظیم شد. سپس محلول در داخل حمام آب گرم ۵۵ درجه به مدت نیم ساعت به طور یکنواخت به‌هم‌زده شد. پس از سرد شدن، محلول از فیلتر ۵۰ نانومتر عبور داده شد.

۳.۲ تعیین سایز ذرات

بررسی اندازه ذرات با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) انجام شد. به این منظور ۲۰µl از محلول حاوی ذره در بافر فسفات بر روی صفحه مخصوص قرار داده شد و پس از خشک شدن و لایه نشانی نازکی از طلا بر روی آن اندازه ذرات نمونه به‌وسیله دستگاه تعیین گردید.

۴.۲ نشان‌دارسازی ذرات با ^{99m}Tc

برای نشان‌دارسازی ذرات تهیه شده، ابتدا مقدار ۱ میلی‌لیتر از محلول حاوی ذرات برداشته شده و به آن مقادیر مختلفی شامل ۳۷۰، ۷۴۰ و ۱۸۳۰ مگابکرل از تکنسیم ۹۹ام ($[^{99m}Tc]TcO_4^-$) به منظور بررسی اثر مقدار اکتیویته بر بازده نشان‌دارسازی به نمونه‌ها اضافه شدند. حجم نهایی نمونه‌ها بر روی ۱/۵ میلی‌لیتر تنظیم گردید و برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس مراحل مختلف کنترل کیفی بر روی آن‌ها انجام شد.

۵.۲ تعیین بازده نشان‌دارسازی

بازده نشان‌دارسازی و خلوص رادیوشیمیایی نمونه‌های تهیه شده نشان‌دار با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک بررسی شدند. ابتدا با استفاده از حلال استون خالص به عنوان فاز متحرک و کاغذ سیلیکاژل به عنوان فاز ثابت کروماتوگرافی انجام شد. در این سیستم کروماتوگرافی، ذرات نشان‌دار در مبدأ باقی مانده و تکنسیم ۹۹ام آزاد به شکل پرتکنتات که هم‌چنان به صورت آزاد باقی مانده و با ذرات آلبومین وارد کمپلکس نشده است، همراه با جبهه حلال حرکت کرده و در بالای کاغذ قرار می‌گیرد. در کروماتوگرافی دیگری از حلال نرمال سالین و کاغذ واتمن شماره ۳ آغشته شده با آلبومین انسانی استفاده شد. در این سیستم کروماتوگرافی، ذرات نشان‌دار حرکت کرده و در بالای کاغذ قرار می‌گیرند و تکنسیم ۹۹ام که به شکل کلوئید هیدرولیز شده درآمده است، در مبدأ باقی می‌ماند. به این ترتیب میزان ناخالصی‌های موجود به دست آمده و میزان خلوص رادیوشیمیایی ذرات نشان‌دار تهیه شده مشخص گردید.

۶.۲ بررسی پایداری ذرات نشان‌دارشده در سالین

پایداری ذرات نشان‌دارشده تهیه شده در محیط نرمال سالین تعیین شد. برای این منظور ۱۰۰ میکرولیتر از ذرات نشان‌دار برداشته شده و در یک ویال ریخته شد. سپس به میزان ۹۰۰ میکرولیتر از محلول نرمال سالین به آن اضافه شد. محلول نهایی برای زمان‌های مختلف در دمای اتاق انکوبه گردید. سپس با گذشت زمان‌های ۱، ۲، ۴ و ۶ ساعت پس از انکوبه کردن از محلول نمونه‌برداری شد و با تعیین خلوص رادیوشیمیایی ذرات نشان‌دارسازی شده به روش کروماتوگرافی بیان شده در بالا، میزان پایداری آن‌ها برای زمان‌های مختلف مشخص شد.

۷.۲ بررسی پایداری ذرات نشان‌دارشده در سرم انسانی

برای تهیه سرم خونی ابتدا اجازه می‌دهیم سلول‌های خونی نمونه لخته شوند و سپس به کمک سانتریفیوژ سرم خونی (محلول رویی) را جمع‌آوری می‌کنیم.

برای انجام تست پایداری در سرم، ۱۰۰ میکرولیتر از ذرات نشان‌دار برداشته شده و در یک ویال ریخته شد. سپس به میزان ۹۰۰ میکرولیتر از سرم خونی تهیه شده به آن اضافه شد و برای مدت زمان‌های ۱، ۲ و ۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. بعد از انجام انکوباسیون در زمان‌های معین شده، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول پلاسمای حاصل، نمونه‌برداری شده و به منظور دناتوره کردن پروتئین‌های سرم انسانی به آن ۱۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۶ درصد افزوده گردید. سپس پروتئین‌های رسوب کرده توسط سانتریفیوژ جدا شده و پایداری کمپلکس نشان‌دار در سرم انسانی به کمک روش TLC مورد بررسی قرار گرفت.

۸.۲ بررسی توزیع زیستی ذرات نشان‌دارشده در موش سالم

جهت تعیین مسیر پخش ذرات نشان‌دار در بدن موش و هم‌چنین مشخص شدن مسیر تجمع و دفع ذرات نشان‌دار بررسی توزیع زیستی ذرات نشان‌دار در موش‌های صحرایی سالم برای زمان‌های مشخص پس از تزریق داخل وریدی انجام شد (برای هر زمان مشخص سه موش صحرایی نرمال). برای این منظور از ذرات نشان‌دار تهیه شده به مقدار ۲۰۰ میکرولیتر که دارای اکتیویته‌ای معادل ۷/۴ مگابکرل بود توسط سرنگ کشیده شده و از راه سیاهرگ دمی به موش‌ها تزریق شدند. سپس به

ترتیب پس از گذشت زمان ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت پس از تزریق موش‌ها کشته شده و ارگان‌های مورد نظر آن‌ها جدا گردیدند و پس از وزن کردن، میزان اکتیویته مربوط به هر بافت به کمک دستگاه گاما کانتر مشخص شدند. سپس برای هر بافت، میزان درصد توزیع زیستی برحسب گرم بافت (%ID/g) از اکتیویته کل تزریقی محاسبه گردید.

۹.۲ بررسی توزیع زیستی ذرات نشان‌دار شده در موش توموری

جهت ایجاد تومور در موش از سلول‌های گلیوما (رده سلولی C۶) استفاده شد. برای این منظور ابتدا سلول‌ها در محیط کشت مخصوص RPMI-۱۶۴۰ تکثیر شدند. سپس از سلول‌های تکثیر شده سوسپانسیون سلولی تهیه گردید. به هر یک از موش‌ها معادل ۱×۱۰^{۷} سلول در محل پای موش صحرایی تزریق گردید. موش‌ها در شرایط مناسب نگه‌داری شدند تا پس از گذشت ۲ هفته از زمان تزریق سلول‌ها تومور در پای موش‌های صحرایی تشکیل شد. در این زمان سایز تومور ایجاد شده در حدود یک سانتی‌متر که برای تصویربرداری به روش گاما اسپکتروسکوپی مناسب می باشد.

پس از آماده شدن تومور جهت تزریق به موش‌ها مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از ذرات نشان‌دار که دارای اکتیویته‌ای معادل ۷/۴ مگابکرل بود در سرنگ آماده شده و از طریق ورید دمی به موش‌های دارای تومور تزریق گردید. جهت به دست آوردن توزیع بیولوژیکی ذرات نشان‌دار بهترین زمانی که هم ترکیب به اندازه کافی توزیع و دفع شده و هم برای تصویربرداری با توجه به نیمه‌عمر رادیونوکلید مورد استفاده زمان مناسبی می‌باشد، یعنی زمان ۹۰ دقیقه در نظر گرفته شد و توزیع زیستی ذرات نشان‌دار شده بررسی و درصد توزیع زیستی برحسب گرم بافت (%ID/g) برای هریک از ارگان‌ها و تومور محاسبه شد.

۱۰.۲ تصویربرداری از موش توموری

جهت بررسی توزیع بیولوژیکی در بدن موش و به دست آوردن تصویری که بتوان موقعیت تومور و چگونگی توزیع کلی ذرات نشان‌دار را مشاهده کرد، موش توموری بعد از گذشت زمان ۹۰ دقیقه از زمان تزریق با استفاده از پرتو گامای منتشره از رادیونوکلید تکنسیم ۹۹ام تصویربرداری شد. بدین منظور مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از ذرات نشان‌دار دارای اکتیویته معادل ۱۱ مگابکرل به داخل ورید دمی موش تزریق شد. سپس در زمان موردنظر موش بیهوش شده و تصویربرداری با استفاده از دوربین گامای مجهز به موازی‌کننده با حساسیت بالا گرفته شد.

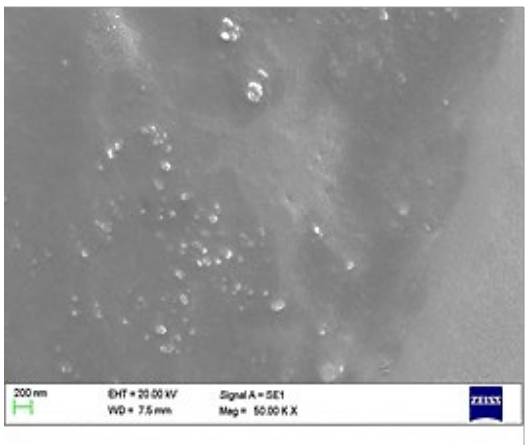
۳. نتایج

۱.۳ تهیه ذرات آلبومینی

ذرات آلبومین با روش حرارت دادن تهیه گردید. در مطالعات قبلی انجام شده در مورد تهیه نانوذرات آلبومین از پلوکسامر به‌عنوان عامل پایدارکننده استفاده شده در حالی که در این مطالعه از توئین ۲۰ استفاده شد. هم‌چنین به جای دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد از درجه حرارت ۵۵ درجه سانتی‌گراد جهت تشکیل ذرات استفاده شد [۱۵]. حرارت باعث تخریب بافت پروتئینی آلبومین شده و با توجه به هم زدن محلول، ذرات بسیار ریزی با کمک حرارت تشکیل می‌شوند. دما و زمان حرارت دادن و هم‌چنین هم زدن یکنواخت در تشکیل ذرات بسیار ریز تأثیر به‌سزایی ایفا می‌کنند. اندازه ذرات نشان‌دار نقش اساسی را در مسیری که در توزیع بیولوژیکی طی می‌کنند، دارا می‌باشد. ذرات با سایزهای بزرگ در حد چند میکرون بلافاصله با گردش خون به ریه رسیده و در آن‌جا به دام می‌افتند. ذرات با اندازه‌های کم‌تر در کبد و طحال تجمع می‌کنند. ذرات با اندازه خیلی کوچک می‌توانند در تومورها جذب شوند و در صورت نشان‌دار بودن با رادیونوکلید گاما دهنده به تصویربرداری از محل تومور کمک می‌کنند. لذا جهت تهیه ذرات مناسب برای تصویربرداری از تومور میزان حرارت و زمان در نظر گرفته شده می‌بایست مورد توجه قرار گیرد.

محلول نهایی فیلتر شده دارای ظاهری شفاف و بی‌رنگ بود. به منظور بررسی شکل ذرات تشکیل شده و اندازه آن‌ها از روش میکروسکوب الکترونی استفاده شد. نتیجه به دست آمده مربوط به ذرات تشکیل شده در شکل ۱ آورده شده است. همان‌طور که در شکل مشخص می‌باشد پراکندگی سایز ذرات به دست آمده نهایی در محدوده زیر ۵۰ نانومتر قرار داشت.

این ذرات جهت مراحل نشان‌دارسازی و ارزیابی‌های بعدی استفاده شدند.



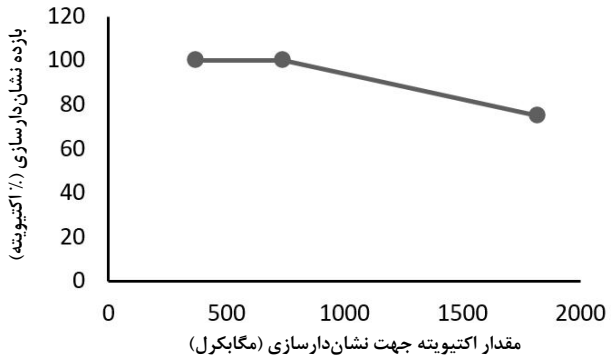
شکل ۱. ذرات آلبومین تشکیل شده با حرارت در زیر میکروسکوپ الکترونی.

۲.۳ نشان‌دارسازی ذرات با تکنسیم ۹۹ام و بررسی خلوص رادیوشیمیایی

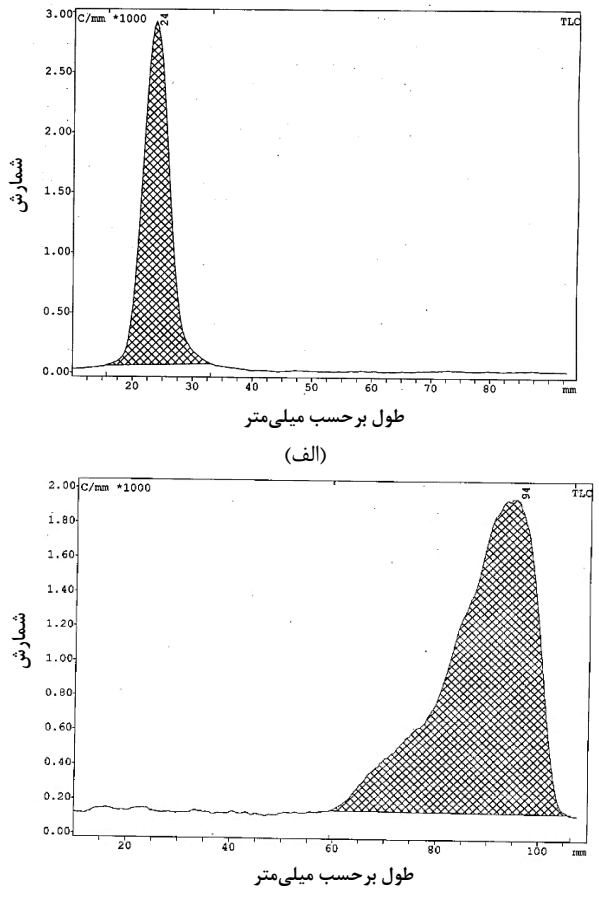
نشان‌دارسازی ذرات آلبومین تهیه شده در حضور کلرید قلع جهت احیاء تکنسیم ۹۹ام به ظرفیت‌های پایین‌تر برای امکان ایجاد کمپلکس با عوامل شلاته‌کننده دارای گروه‌های الکترون دهنده انجام می‌شود. برای نشان‌دارسازی ذرات آلبومین از مقادیر متفاوت رادیونوکلید استفاده شد. نتایج نشان‌دارسازی ذرات آلبومین برای مقادیر مختلف تکنسیم ۹۹ام در شکل ۲ نشان داده شده است.

همان‌طور که در شکل دیده می‌شود در حضور مقدار ۱۰۰ میکروگرم از کلرید قلع و برای اکتیویته‌های ۳۷۰ و ۷۴۰ مگابکرل از تکنسیم ۹۹ام بازده نشان‌دارسازی ۱۰۰ درصد به دست آمد و افزایش اکتیویته به ۱۸۳۰ مگابکرل سبب پایین آمدن بازده نشان‌دارسازی تا حدود ۷۵ درصد شد که می‌تواند به دلیل ناکافی بودن عامل احیاءکننده برای مقادیر بالاتر از میزان نرمال از تکنسیم ۹۹ام باشد. تعیین میزان پرتکنتات آزاد و بازده نشان‌دارسازی، مطابق با روش‌های قبلی انجام شده بود [۱۵].

شرایط بهینه به دست آمده در نشان‌دارسازی شامل مقدار یک میلی‌لیتر از ذرات معلق شده در بافر فسفات و ۱۰۰ میکروگرم کلرید قلع در حضور مقدار ۷۴۰ مگابکرل تکنسیم ۹۹ام با حجم نهایی نشان‌دارسازی ۱/۵ میلی‌لیتر و ۳۰ دقیقه انکوبه در دمای محیط بود که راندمان نشان‌دارسازی برای این مقدار از اکتیویته برابر ۱۰۰ درصد حاصل شد. بازده نشان‌دارسازی و خلوص رادیوشیمیایی برای ذرات نشان‌دار بررسی شد. نتایج بررسی خلوص رادیوشیمیایی ذرات نشان‌دار شده با روش کروماتوگرافی لایه نازک در سیستم‌های مختلف فاز ثابت و فاز متحرک در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل دیده می‌شود در سیستم با حلال استون تکنسیم ۹۹ام به شکل پرتکنتات آزاد کمپلکس نشده به همراه حلال حرکت کرده و در بالای کاغذ (R_f =۱) و ذرات نشان‌دار شده بدون حرکت در مبدأ (R_f =۰) باقی مانده‌اند. برای سیستم حلال سالین و کاغذ واتمن شماره ۳ آغشته شده با آلبومین ذرات نشان‌دار از مبدأ به سمت بالا (R_f =۱) حرکت کرده فقط ناخالصی مربوط به تکنسیم ۹۹ام به شکل هیدرولیز شده و کلوئیدی در مبدأ (R_f =۰) باقی می‌ماند. همان‌طور که دیده می‌شود، اکتیویته‌ای در مبدأ باقی نمانده و با حلال به بالا حرکت کرده است.



شکل ۲ بررسی بازده نشان‌دارسازی ذرات حاوی مقدار ۱۰۰ میکروگرم کلرید قلع و نشان‌دار شده با مقادیر مختلف اکتیویته شامل: ۳۷۰، ۷۴۰ و ۱۸۳۰ مگابکرل.



شکل ۳. طیف کروماتوگرام ذرات نشان‌دار شده در حلال استون و کاغذ سیلیکاژل (الف)، حلال سالین و کاغذ واتمن شماره ۳ آغشته شده با آلبومین انسانی (ب).

۳.۳ بررسی میزان پایداری ذرات نشان‌دار شده در سالین و سرم انسانی

پایدار بودن ترکیب نشان‌دار از موارد دارای اهمیت می‌باشد. ناپایداری ترکیب نشان‌دار و جدا شدن رادیونوکلید (تکنسیم ۹۹ام) از لیگاند باعث افزایش میزان اکتیویته جانبی در محیط (خون) شده و در نتیجه وضوح تصویر و تشخیص محل تومور با مشکل روبه‌رو می‌گردد. پایداری ذرات آلبومین نشان‌دارشده در

نرمال سالین مناسب بودن فرمولاسیون و مقدار لیگاند استفاده شده را نشان داد. هم‌چنین پایداری خوب ترکیب تهیه شده امکان استفاده از آن را به صورت تزریقی برای تصویربرداری از محل تومورها فراهم می‌سازد.

نتایج مربوط به بررسی پایداری ذرات نشان‌دارشده در سالین در جدول ۱ گزارش شده است. همان‌طور که در جدول دیده می‌شود ذرات آلبومین نشان‌دار شده بعد از گذشت زمان ۱ ساعت بالای ۹۷ درصد پایدار بوده و با گذشت ۲ ساعت پایداری آن‌ها به ۹۴٫۲۹±۰٫۷۴ درصد رسیده است. این ذرات نشان‌دار با گذشت ۶ ساعت در محیط نرمال سالین، پایداری در حدود ۹۰ درصد (۸۹٫۰۳±۲٫۱۰) را نشان دادند.

هم‌چنین بررسی پایداری در سرم انسانی نشان از پایداری بالای ۹۰ درصد تا زمان ۶ ساعت را دارد. نتایج در جدول ۲ خلاصه شده است.

جدول ۱. بررسی خلوص رادیوشیمیایی ذرات نشان‌دارشده در محیط نرمال سالین در زمان‌های مختلف

زمان	درصد خلوص رادیوشیمیایی
۱	۹۷٫۱۴ ± ۰٫۹۲
۲	۹۴٫۲۹ ± ۰٫۷۴
۴	۹۰٫۵۶ ± ۱٫۲۴
۶	۸۹٫۰۳ ± ۲٫۱۰

جدول ۲. بررسی پایداری برون‌تنی ذرات نشان‌دارشده در سرم انسانی در زمان‌های مختلف

زمان	درصد خلوص رادیوشیمیایی
۱	۹۶٫۷۵ ± ۱٫۲۳
۲	۹۵٫۰۰ ± ۰٫۵۸
۶	۹۱٫۵۲ ± ۰٫۶۹

جدول ۳. توزیع زیستی در موش سالم (برای هر زمان ۳ موش) برحسب درصد میزان جذب دُز تزریقی (۲۰۰ میکرولیتر با اکتیویته ۷٫۴ مگابکرل) برگرم ارگان (%ID/g) در زمان‌های مشخص

	۱ ساعت	۲ ساعت	۳ ساعت	۴ ساعت
خون	۱٫۰۶±۰٫۰۷	۰٫۶۴±۰٫۰۴	۰٫۴۲±۰٫۰۲	۰٫۳۷±۰٫۰۳
قلب	۰٫۶۲±۰٫۰۳	۰٫۳۷±۰٫۰۲	۰٫۲۳±۰٫۰۳	۰٫۲۳±۰٫۰۲
ریه	۰٫۷۲±۰٫۰۳	۰٫۴۷±۰٫۰۳	۰٫۳۳±۰٫۰۲	۰٫۳۳±۰٫۰۳
معده	۰٫۴۷±۰٫۰۲	۰٫۶۶±۰٫۰۵	۰٫۹۶±۰٫۰۶	۰٫۵۰±۰٫۰۲
روده	۰٫۳۴±۰٫۰۱	۰٫۴۳±۰٫۰۲	۰٫۳۰±۰٫۰۱	۰٫۴۰±۰٫۰۱
تیروئید	۰٫۵۹±۰٫۰۳	۰٫۲۷±۰٫۰۱	۰٫۱۲±۰٫۰۱	۰٫۱۸±۰٫۰۲
کبد	۱٫۲۲±۰٫۰۷	۱٫۶۰±۰٫۰۸	۰٫۹۳±۰٫۰۵	۱٫۰۷±۰٫۰۷
طحال	۱٫۰۲±۰٫۰۵	۰٫۷۶±۰٫۰۶	۰٫۵۴±۰٫۰۳	۰٫۵۷±۰٫۰۴
پوست	۰٫۳۷±۰٫۰۲	۰٫۲۳±۰٫۰۲	۰٫۱۵±۰٫۰۱	۰٫۱۴±۰٫۰۱
استخوان	۰٫۴۸±۰٫۰۲	۰٫۴۰±۰٫۰۲	۰٫۴۷±۰٫۰۴	۰٫۳۰±۰٫۰۱
عضله	۰٫۱۳±۰٫۰۱	۰٫۰۹±۰٫۰۱	۰٫۰۸±۰٫۰۱	۰٫۰۳±۰٫۰۱
کلیه	۶٫۷۸±۱٫۲۲	۷٫۷۸±۱٫۴۰	۵٫۱۴±۰٫۹۰	۵٫۶۶±۱٫۰۲

۳.۴ توزیع زیستی ذرات نشان‌دارشده در موش نرمال

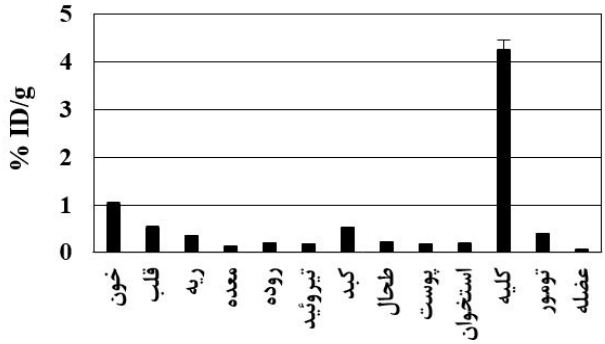
بررسی توزیع زیستی در موش به خوبی می‌تواند مناسب بودن فرمولاسیون تهیه شده و چگونگی توزیع و پراکنده شدن آن و نهایتاً چگونگی دفع ترکیب را نشان دهد.

توزیع بیولوژیکی ذرات نشان‌دار شده آلبومین در فواصل زمانی ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت پس از تزریق از طریق ورید دمی به موش‌های سالم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج توزیع زیستی براساس درصد میزان جذب دُز تزریقی بر گرم ارگان (%ID/g) در جدول ۳ خلاصه شده است. همان‌طور که در نتایج نشان داده شده است، جذب اکتیویته در کلیه برابر با ۶٫۷۸±۱٫۲۲ برای زمان ۱ ساعت بود و بعد از ۲ ساعت به بالاترین میزان یعنی ۱٫۴۰ ± ۷٫۷۸ رسید. جذب بالا در کلیه نشان‌دهنده این مطلب است که ذرات آلبومین نشان‌دارشده با استفاده از مسیر کلیوی دفع می‌شوند که می‌تواند مطلوب باشد. پس از کلیه کبد با جذب ۰٫۰۸ ± ۱٫۶۷ و طحال با جذب ۰٫۰۶ ± ۰٫۷۶ بالاترین میزان جذب اکتیویته را نشان دادند. جذب در کبد و طحال می‌تواند به واسطه وجود سیستم ذره‌خواری در این ارگان‌ها باشد. در مقایسه با کارهای انجام شده در همین زمینه که با ذرات دارای اندازه بزرگ‌تر انجام شده است، میزان جذب در کبد و طحال پایین‌تری برای ذرات آلبومین نشان‌دار تهیه شده در این مطالعه دیده شد. در یک گزارش منتشر شده برای نانوذرات فیتیت دارای گستره سایز بین ۵ تا ۱۰۰۰ نانومتر میزان جذب در کبد و طحال در اولین ساعت پس از تزریق بین ۲۰ تا ۳۵ درصد گزارش شده است [۱۶]. جذب پایین‌تر در کبد و طحال برای نانوذرات آلبومینی تهیه و نشان‌دار شده، می‌تواند برای تشخیص تومورهای ناحیه شکمی به علت کاهش بیش‌تر اکتیویته زمینه‌ای مفید باشد.

اکتیویته در خون بعد از گذشت زمان ۲ ساعت برابر با ۰٫۰۴ ± ۰٫۶۴ بود که با گذشت زمان ۴ ساعت بعد از تزریق به ۰٫۰۳ ± ۰٫۳۷ کاهش یافت. جذب پایین در تیروئید و معده نسبت به سایر ارگان‌ها دلالت بر پایداری ترکیب نشان‌دارشده در شرایط درون تنی دارد.

۵.۳ توزیع زیستی ذرات نشان‌دار در موش توموری

توزیع زیستی ذرات نشان‌دار شده در موش توموری با گذشت زمان ۹۰ دقیقه پس از تزریق بر اساس درصد میزان جذب دُز تزریقی بر گرم ارگان (%ID/g) در شکل ۴ نشان داده شده است. هر چه ترکیب نشان‌دار دفع سریع‌تر و جذب در ناحیه توموری مورد نظر بیش‌تری داشته باشد می‌تواند کمک بهتری به تشخیص صحیح بیماری و در نتیجه تصمیم‌گیری برای درمان را دارا باشد.



شکل ۴. توزیع زیستی ذرات نشان‌دار در موش توموری شده (سه موش) در زمان ۹۰ دقیقه (مقدار اکتیویته تزریق شده معادل ۷٫۴ مگابکرل در حجم ۲۰۰ میکرولیتر است).

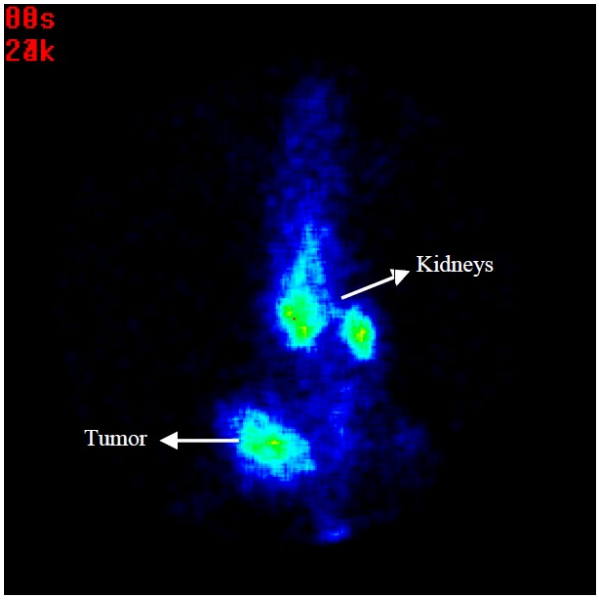
همانند نتایج به دست آمده در موش سالم، هم‌چنان کلیه‌ها بالاترین میزان جذب اکتیویته را نشان دادند. ذرات نشان‌دار شده توانستند جذب تومور شده و اکتیویته جذب شده در تومور برابر ۰٫۰۳ ± ۰٫۳۹ محاسبه شد. نسبت جذب تومور به جذب در عضله (۰٫۰۱ ± ۰٫۰۶) برابر ۶٫۵ محاسبه شد. جذب در سایر ارگان‌ها از جمله کبد (۰٫۰۷ ± ۰٫۵۲)، طحال (۰٫۰۵ ± ۰٫۲۳) و خون (۰٫۰۲ ± ۱٫۰۲) نیز همانند موش سالم دیده شد.

۶.۳ تصویربرداری موش توموری شده

برای موش توموری پس از تزریق ذرات نشان‌دار تصویربرداری انجام شد. تصویر گاما اسپکتروسکوپی تمام بدن موش توموری ۹۰ دقیقه پس از تزریق ذرات نشان‌دار شده با تکنسیم ۹۹ام در شکل ۵ نمایش داده شده است. در تصویر به دست آمده از موش توموری کلیه‌ها به خوبی نمایان شدند که نشان‌دهنده مسیر دفعی برای ذرات نشان‌دار تزریقی می‌باشد. هم‌چنین محل تومور در پای موش به خوبی قابل تشخیص بود که دلیلی بر تجمع ذرات در ناحیه توموری نسبت به نواحی دیگر با نسبت بالای ارگان هدف به غیرهدف می‌باشد. نسبت بالای محاسبه شده برای ناحیه تومور به عضله، منجر به ایجاد وضوح تصویر خوب و تمایز بافت توموری از بافت نرمال گشته و بافت توموری نسبت به بافت زمینه به خوبی قابل تمایز و تفکیک است.

۴. نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که ذرات آلبومین نشان‌دار شده به کمک رادیونوکلید تکنسیم ۹۹ام قابلیت کاربرد به‌عنوان رادیوداروی تشخیصی برای تومور را دارا بوده و با تحقیقات بیش‌تر بر روی انواع تومورهای مربوط به بافت‌های مختلف می‌توان به رادیوداروییی مناسب برای تشخیص تومور بر پایه ذرات نشان‌دار دست یافت.



شکل ۵. تصویر موش توموری، ۹۰ دقیقه پس از تزریق ذرات آلبومین نشان دار.

مراجع

1. Rempel S.A, Ge S, Gutiérrez J.A. SPARC: a potential diagnostic marker of invasive meningiomas. Clin Cancer Res. 1999;5:237.
2. Hirose M, Tachibana A, Tanabe T. Recombinant human serum albumin hydrogel as a novel drug delivery vehicle. Mat Sci Eng. 2010;30:664.
3. Elzoghby A.O, Samy W.M, Elgindy N.A. Albumin-based nanoparticles as potential controlled release drug delivery systems. J. Control Release. 2012;157:168.
4. Fanali G, Di Masi A, Trezza V, Marino M, Fasano M, Ascenzi P. Human serum albumin: From bench to bedside. Mol. Asp. Med. 2012;33:209.
5. Abeyrathne E.D, Lee H.Y, Ahn D.U. Egg white proteins and their potential use in food processing or as nutraceutical and pharmaceutical agents. Poult. Sci. 2013;92:3292.
6. Verma D, Gulati N, Kaul S, Mukherjee S, Nagaich U. Protein based nanostructures for drug delivery. J. Pharm (Cairo). 2018;16:9285854.
7. Kratz F. Albumin as a drug carrier: Design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles. J. Control. Release. 2008;132:171.
8. Elzoghby A.O, Samy W.M, Elgindy N.A. Albumin-based nanoparticles as potential controlled release drug delivery systems. J. Control. Release. 2012;157:168.
9. Kratz F. A clinical update of using albumin as a drug vehicle-a commentary. J. Control Release. 2014;190:331.
10. Lomis N, Westfall S, Farahdel L, Malhotra M, Shum-Tim D, Prakash S. Human Serum Albumin Nanoparticles for Use in Cancer Drug Delivery: Process Optimization and In Vitro Characterization. Nanomaterial. 2016;6:116.

11. Patel J.J, Alzahrani T. Myocardial Perfusion Scan. (StatPearls Publishing; Treasure Island (FL)). 2022.
12. Papagiannopoulou D. Technetium-99m radiochemistry for pharmaceutical applications. J. Labelled Comp Radiopharm. 2017;60:502.
13. Mikaeili A, Erfani M, Sabzevari O. Synthesis and evaluation of a ^{99m}Tc-labeled chemokine receptor antagonist peptide for imaging of chemokine receptor expressing tumors. Nucl. Med. Biol. 2017;54:10.
14. Green C.H. Technetium-99m production issues in the United Kingdom. J. Med. Phys. 2012;37:66.
15. Kornyei J, Ozker K. Technetium-99m radiopharmaceuticals: manufacture of kits. IAEA technical report series no 466. Vienna: International Atomic Energy Agency. 2008;108-111.
16. Papachristou M, Priftakis D, Xanthopoulos S, Datseris I, Bouziotis P. Biodistribution of intravenous [^{99m}Tc]Tc-phytate in mouse models of chemically and foreign-body induced sterile inflammation. Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 2022;12:91.

COPYRIGHTS
©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.

استناد به این مقاله
میکائیلی، آزاده، فلاح، ژیلا، گودرزی، مصطفی، عرفانی، مصطفی. (۱۴۰۳)، تهیه و بررسی ذرات آلبومین نشان‌دار شده با تکنسیم ۹۹ام جهت تصویربرداری از تومور گلیوما در موش. مجله علوم، مهندسی و فناوری هسته‌ای، ۱۰۹(۳)، ۹۵-۱۰۲. DOI: https://doi.org/10.24200/nst.2024.1596.
Url: https://jonsat.nstri.ir/article_1596.html