



بررسی پارامترهای مؤثر بر نشان‌دارسازی ترکیب هیدروکسی آپاتیت با ^{90}Y و ارزیابی بهترین روش برای تولید رادیوداروی ^{90}Y -HAp مورد استفاده در رادیوسینوکتومی

محمد رضا داورپناه، حسین علی خوش حسن*، سیما عطار نصرتی، سیدمحمسن هراتی، سیدمحمودرضا آقامیری، محمد قنادی مراغه پژوهشکده‌ی چرخه‌ی سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۸۴۸۶-۱۱۳۶۵، تهران - ایران

چکیده: رادیوسینوکتومی، تزریق موضعی درون مفصلی رادیونوکلیدها به صورت کلویید، برای درمان تورم مفصلی آرتریت روماتیسمی، هموفیلی یا عوارض ارتوپدی است. رادیونوکلیدهای بتاگسیل بسته به انرژی تابش گسیلیده می‌توانند برای مفاصل مختلف مورد استفاده قرار بگیرند. ^{90}Y ، یک رادیونوکلید بتاگسیل محض با نیم-عمر ۶۴٫۱ ساعت است که برای درمان مفصل زانو مورد استفاده قرار می‌گیرد. تابش بتای این رادیونوکلید، دارای انرژی بیشینه‌ی ۲٫۲۸۱ MeV (۹۹٫۹۸٪)، برد متوسط ۳٫۶ mm و برد بیشینه‌ی ۱۱ mm در بافت‌های نرم است. در این پژوهش، هیدروکسی آپاتیت (HAp) به عنوان عامل کلوییدساز استفاده شده است که از طریق تشکیل پیوندهای یون-دوقطبی با $^{90}\text{Y}^{3+}$ برهم‌کنش داده و ^{90}Y -HAp تولید می‌کند. رادیوداروی کلوییدی، از طریق افزودن محلول اسیدی $^{90}\text{YCl}_3$ به سوسپانسیون هیدروکسی آپاتیت در سالین، تولید شده است. عوامل مؤثر بر نشان‌دارسازی کلویید از قبیل حجم حلال رقیق‌کننده، اندازه‌ی ذرات هیدروکسی آپاتیت و اثر آوادهی مورد بررسی و آزمایش قرار گرفته‌اند. این پارامترها ابتدا در یک فاز شبیه‌سازی، بهینه و سپس در فاز اجرا آزموده شده‌اند. در نهایت بهترین روش برای تولید این رادیودارو تعیین شده است. خلوص رادیونوکلیدی رادیودارو مطابق با محلول اولیه‌ی $^{90}\text{YCl}_3$ بیش از ۹۹٫۹٪ بود. بازده نشان‌دارسازی و خلوص رادیوشیمیایی با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه‌ی نازک (TLC) با حلال سالین تا سه روز پس از تولید رادیودارو، بیش از ۹۹٪ به دست آمد. پایداری شیمیایی کلویید ^{90}Y -HAp در محلول سرم انسانی نیز به مدت سه روز در دمای اتاق بررسی شد. مقدار فعالیت پرتوزایی آزاد شده، بین ۰٫۳ تا ۲٪ بود.

کلیدواژه‌ها: ایتیریم-۹۰، هیدروکسی آپاتیت، رادیوداروی کلوییدی، ^{90}Y -HAp، رادیوسینوکتومی

Evaluation of Effective Parameters on Labeling of Hydroxyapatite Compound with ^{90}Y and Introducing the Best Method to Produce ^{90}Y -HAp Radiopharmaceutical for Radiosynovectomy

M.R. Davarpanah, S.M. Aghamiri, H.A. Khoshhosn*, S. Attar Nosrati, S.M. Harati, M. Ghannadi Maragheh
Nuclear Fuel Cycle Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 11365-8486, Tehran - Iran

Abstract: Radiosynovectomy is a local intra-articular injection of radionuclides in colloidal form for treatment of articular inflammatory in rheumatoid arthritis, hemophilia or orthopedic troubles. β -emitting radionuclides can be used for various joints based on radiation energy. ^{90}Y is a pure β -emitter with a half-life of 64.1 hours that is used for treatment of the knee joint. β -radiation of this radionuclide possesses maximum energy of 2.281 MeV (99.98%), mean pathway of 3.6 mm in the soft tissue and maximum 11 mm. In this project, hydroxyapatite (HAp) is applied as a colloid maker agent that interacts with $^{90}\text{Y}^{3+}$ ions via ion-dipole bonds and produces ^{90}Y -HAp. The colloidal pharmaceutical is produced by adding an acidic solution of $^{90}\text{YCl}_3$ to an HAp suspension in saline. Effective parameters within which the colloid is applied, such as the volume of diluent, HAp particle size and sonication effect were evaluated and tested. First, these determinative parameters were optimized in the simulated conditions and then examined in the active phase. Finally, the best procedure was determined for the production of the radiopharmaceutical. Radionuclide purity of the radiopharmaceutical according to the primary $^{90}\text{YCl}_3$ solution was over 99.9%. Labeling yield and radiochemical purity were obtained over 99% using TLC method in saline solvent up to three days after production of radiopharmaceutical. Radiochemical purity of ^{90}Y -HAp colloid was also evaluated in human serum albumin solution for three days at room temperature. The amount of released activity was between 0.3 to 2%.

Keywords: Yttrium-90, Hydroxyapatite, Colloidal Radiopharmaceutical, ^{90}Y -HAp, Radiosynovectomy

*email: hkhoshhosn@aeoi.org.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۲/۱۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۰/۷/۱۹

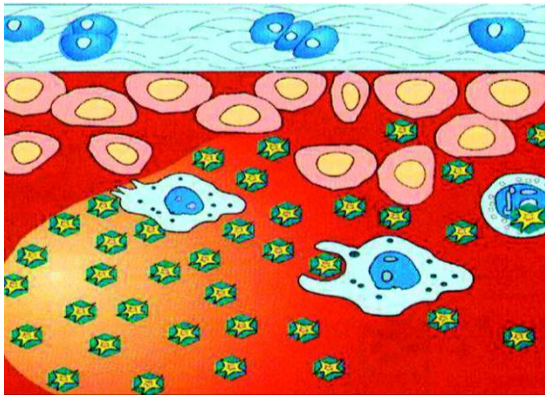
۱. مقدمه

ناهنجاری‌های مفصلی در همه‌ی جوامع نسبتاً متداول‌اند. درصد زیادی از مردم در تمام گروه‌های سنی، از ناهنجاری‌های مفصلی مختلف رنج می‌برند که برخی از آن‌ها ماهیت مزمن داشته و عوارضی چون درد، ناهنجاری‌های ظاهری و ناتوانی دارند. یکی از شایع‌ترین عوامل، آرتريت روماتوئیدی^(۱) است. تخمین زده شده است که ۳ درصد مردم به این بیماری مبتلا هستند [۱].

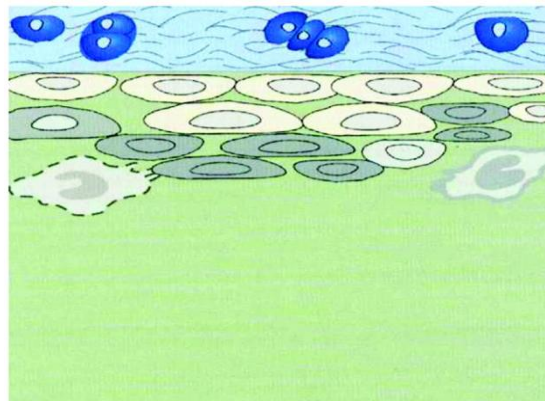
رادیوسینوکتومی روش درمانی جدیدی برای چنین ناهنجاری‌های مفصلی است. در این روش، مقدار اندکی از رادیودارو به مفصل تزریق می‌شود. برای این منظور از رادیونوکلیدهای بتاگسیل استفاده می‌شود. این رادیونوکلیدها به کلویدهای متصل می‌شوند که توانایی رسیدن به مفصل‌ها را داشته و به وسیله‌ی لایه‌ی خارجی غشاء سینوویال به عنوان جسم خارجی تلقی شده و توسط این سلول‌ها بلعیده می‌شوند (ذره‌خواری^(۲)) (شکل ۱). با اعمال دز تابشی حدود ۷۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ رم به سینوویم، بافت تکثیرشونده تخریب، و ترشح مایع و التهاب ایجاد شده از ترکیبات سلولی خونی، متوقف و نهایتاً سطح مفصل صلب می‌شود. این امر، التیام طولانی مدت و بهبود کامل مفصل را به همراه دارد [۲].

رادیونوکلیدهای مختلفی برای رادیوسینوکتومی مناسب‌اند. نوع رادیونوکلیدی که باید استفاده شود، توسط اندازه‌ی مفصلی که مورد درمان قرار می‌گیرد، تعیین می‌شود. رادیونوکلیدهای با تابش کوتاه برد برای مفاصل کوچک‌تر به کار گرفته می‌شوند، مثلاً ارییم-۱۶۹ برای مفاصل انگشتان استفاده می‌شود. انرژی پایین تابش این رادیونوکلید با نیم-عمر طولانی آن جبران می‌شود. در روش‌های معمول امروزی، عمدتاً ایتیریم (^{90}Y)، رنیم (^{186}Re) و ارییم (^{169}Er) به کار می‌روند. در سال‌های اخیر، چندین رادیونوکلید دیگر نظیر هولمیم-۱۶۶ (^{166}Ho) [۳، ۴]، فسفر-۳۲ (^{32}P) [۵]، رنیم-۱۸۸ (^{188}Re) [۶، ۷]، ساماریم-۱۵۳ (^{153}Sm) [۸]، و... معرفی شده‌اند [۹، ۱۰، ۱۱].

تابش بتای رادیونوکلید ^{90}Y با توجه به برد زیاد آن در بافت‌ها (برد متوسط ۳/۶mm و برد بیشینه‌ی ۱۱mm) برای درمان مفاصل بزرگ هم‌چون مفصل زانو با سینوویم بسیار ضخیم مناسب است [۱۲]. ^{90}Y با نیم-عمر ۶۴/۱ ساعت از طریق گسیل تابش β پرنانژی محض به دختر هسته‌ی پایدار ^{90}Zr واپاشیده می‌شود. البته ^{90}Y عموماً از ژنراتورهای $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ به دست می‌آید. وجود ^{90}Sr در کنار ^{90}Y دو نکته‌ی منفی را در پی دارد:



(الف)



(ب)

شکل ۱. الف) ذرات کلوییدی بتازا (ستاره‌های زرد رنگ) توسط پوشش سینوویال حجیم شده‌ی ملتهب با سینوویوسیت‌های تکثیرشونده (صورتی رنگ)، فاگوسیتوز می‌شوند. لایه‌ی غضروف فوقانی تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. ب) نمایش آسیب سلولی و تصلب غشای سینوویال [۱۳].

اولاً، بهره‌ی نشان‌دارسازی را کاهش می‌دهد، زیرا در فرایند نشان‌دارسازی، ^{90}Sr با ^{90}Y رقابت می‌کند. ثانیاً، باعث تحلیل مغز استخوان می‌شود. بنابراین، در فرایندهای تولید ^{90}Y چه از طریق ژنراتورهای $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ ، و چه از طریق منابع تجاری، جداسازی ^{90}Sr بسیار مهم است. اگر چه روش‌های مختلفی برای جداسازی ^{90}Y از ^{90}Sr ارایه شده‌اند، بیش‌ترین کاربرد را روش‌های «تبادل یونی» و «استخراج با حلال» دارا هستند که روش اول برای تولید در مقیاس MBq و روش دوم برای تولید در مقیاس GBq است.

برای مفصل زانو معمولاً از ۱۸۵MBq (۵ mCi) ایتیریم-۹۰ استفاده می‌شود (تقریباً ۱Gy بر گرم). یون‌های $^{90}\text{Y}^{3+}$ از طریق ایجاد پیوندهای یون-دوقطبی با ذرات هیدروکسی آپاتیت، بر روی سطح آن‌ها جذب می‌شوند. ذراتی که یون ایتیریم را حمل می‌کنند، به ذرات نشان‌دار شده موسوم‌اند. هیدروکسی آپاتیت به عنوان یک بستر عمل کرده و یون‌های ایتیریم را به موضع



در این پژوهش، سعی بر این بوده است تا با استفاده از روش‌های پیش از این گزارش شده برای تولید رادیوداروی کلوییدی ایتريم ۹۰- هیدروکسی آپاتیت، یک روش سنتز مناسب با شرایط و امکانات موجود تدوین و سپس عوامل تأثیرگذار بر روند تولید و نشان‌دارسازی کلویید معرفی و در نهایت با بهینه‌سازی تک تک این پارامترها، بهترین روش برای تهیهی این رادیودارو ارایه شود. برای هر مرحله از بهینه‌سازی مقادیر عددی تجزیه‌های لازم آورده شده و چگونگی انتخاب شرایط بهینه به طور جامع مورد بحث قرار گرفته است.

۲. بخش تجربی

۱.۲ مواد و دستگاه‌ها

۱.۱.۲ مواد

محلول نرمال سالین، پودر هیدروکسی آپاتیت با اندازه‌های مختلف ذرات و $^{90}\text{YCl}_3$ مورد استفاده قرار گرفتند.

۲.۱.۲ دستگاه‌ها

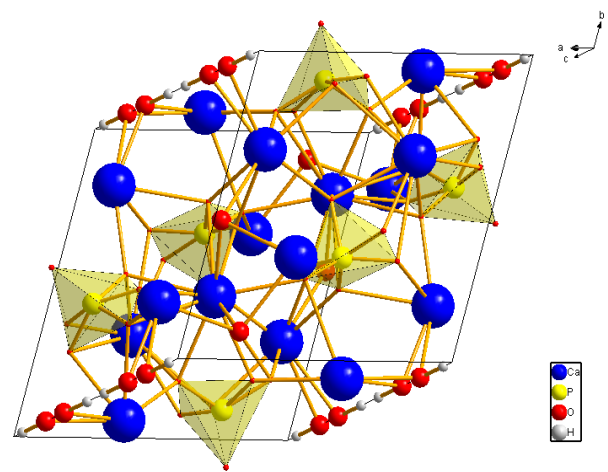
تکانندهی Vibrax VXR، همگن‌کنندهی ورتکس SM90، آوادهندهی S4000، سانتریفوژ Universal 320R، دز کالیبراتور VDC-505، اتوکلاو مگا و میکروسکوپ دیجیتالی BA310 به کار گرفته شدند.

۲.۲ تهیهی کلویید $^{90}\text{Y-HAp}$

مقدار ۴۰mg هیدروکسی آپاتیت و ۰/۸ml سالین در یک ویال ۲ میلی‌لیتری ته‌گرد وارد و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق به وسیلهی تکاننده به شدت تکان داده شد. پس از افزودن حدود $100\mu\text{L}$ از محلول $^{90}\text{YCl}_3$ به مخلوط سفیدرنگ ایجاد شده، تکان دادن مخلوط تا نیم ساعت دیگر ادامه یافت. سوسپانسیون حاصل به مدت ۵ دقیقه در سانتریفوژ با سرعت ۳۵۰۰ دور بر دقیقه قرار داده شد. محلول رویی برای اندازه‌گیری مقدار ^{90}Y آزاد، مورد شمارش قرار گرفت. رسوب با سالین شستشو داده شده و نهایتاً در ۱ml سالین به کمک همگن‌کننده و آوادهنده، به شکل سوسپانسیون درآمد. کلویید شیری رنگ حاصل، به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجهی سانتی‌گراد، استریل، و برای انجام بررسی‌های کنترل کیفی آماده شد.

موردنظر در ناحیهی مفصل می‌رساند. بررسی‌های اتورادیوگرافی نشان داده است که کلوییدهای ایتريم به سرعت وارد لایه‌های سطحی و همچنین بخشی از لایه‌های عمیق‌تر غشای سینوویال می‌شوند ولی مقدار بسیار اندکی به استخوان می‌رسد [۱۴، ۱۵]. در یک محیط زیستی، هیدروکسی آپاتیت، طی یک دوره‌ی شش هفته‌ای به طور کامل تجزیه شده و یون‌های Ca^{2+} و PO_4^{3-} ایجاد می‌کند [۱۶]. بنابراین، چیزی که کلویید $^{90}\text{Y-HAp}$ در بدن از خود به جا می‌گذارد، اثر تابش بتا به منظور کاهش درد و التهاب مفصل است.

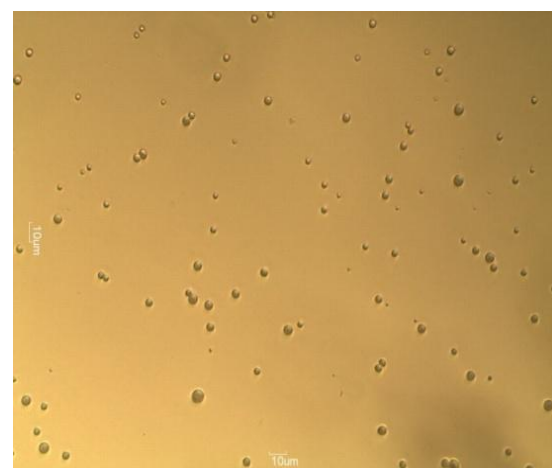
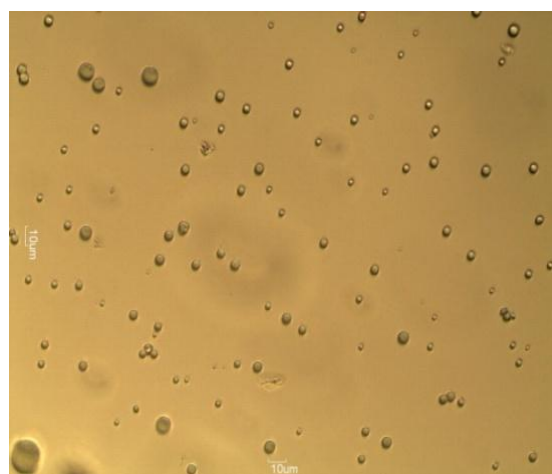
ترکیبات یونی رادیونوکلیدها، در محیط‌های زیستی یونیده می‌شوند، و در نتیجه با ورود به خون ممکن است به اندام‌های دیگر رسیده و منجر به تخریب سلول‌های سالم شوند. برای جلوگیری از این عارضه، رادیونوکلیدهای موردنظر را با ترکیباتی همراه می‌کنند که برای سیستم‌های زیستی سمی نباشند و در محیط‌های زیستی، قابل تجزیه بوده و بتوانند کلوییدهایی ایجاد کنند که به طور برگشت‌ناپذیر با رادیونوکلید پیوند شیمیایی برقرار می‌کنند. یکی از این ترکیبات، هیدروکسیل آپاتیت یا هیدروکسی آپاتیت است که شکل معدنی کلسیم آپاتیت موجود در طبیعت با فرمول $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ و ماده‌ی اصلی سازندهی استخوان در بدن انسان است. ساختار بلوری هیدروکسی آپاتیت در شکل ۲ نشان داده شده است. این ساختار نشان‌دهندهی محل برهم‌کنش هیدروکسی آپاتیت با یون‌های فلزی است که در حقیقت همان اتم‌های اکسیژن در گروه‌های هیدروکسید و فسفات هستند.



شکل ۲. ساختار بلوری هیدروکسی آپاتیت؛ سلول واحد این ترکیب از روی داده‌های بلورنگاری پرتو ایکس ترسیم شده است [۱۷].

۳.۲ بررسی اندازه‌ی ذرات

شکل ظاهری کلوئید به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری و با استفاده از یک لام و لامل قابل مشاهده است (شکل ۳). برای این که قیاس قابل قبولی از تمام مخلوط کلوئیدی به دست آید، از هر کلوئید، چند بار نمونه‌برداری شد. مقدار بررسی شده در هر نمونه‌برداری، حدود ۲۵ میکرولیتر بود. قبل از نمونه‌برداری، لازم بود مخلوط به خوبی تکان داده شود تا تمام ذرات، به صورت یکنواخت در همه جای مخلوط پخش شوند. تصویرهای گرفته شده به وسیله‌ی میکروسکوپ، با نرم‌افزار Motic Images Plus 2.0 (MIP) به صورت کمی بررسی شدند. این نرم‌افزار امکان تعیین محیط و مساحت سطح مقطع ذرات، اندازه‌ی متوسط ذرات، بیشینه و کمینه‌ی محیط و مساحت ذرات را فراهم می‌کند.



شکل ۳. تصویرهای میکروسکوپ نوری کلوئید ایتريم-هیدروکسی آپاتیت.

۴.۲ بررسی پارامترهای مؤثر بر تولید کلوئید $^{90}\text{Y-HAp}$

۱.۴.۲ حجم ماده‌ی رقیق‌کننده

برای تعیین حجم بهینه‌ی ماده‌ی رقیق‌کننده ۴۰ میلی‌گرم از پودر هیدروکسی آپاتیت با اندازه‌ی ذرات ۱۰ میکرومتر، با حجم‌های ۰/۵، ۰/۸، ۱، ۲، ۳ و ۴ از محلول سالین، مخلوط و سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول ایتريم کلرید به آن افزوده شد. پس از تکمیل واکنش، درصد نشان‌دار شدن ذرات کلوئید محاسبه شد.

۲.۴.۲ اندازه‌ی ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت

برای تعیین اندازه‌ی بهینه‌ی ذرات کلوئید $^{90}\text{Y-HAp}$ ، پودرهایی با اندازه‌ی ذرات متفاوت از ۰/۲ تا ۱۲۵ میکرومتر مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، مقدار ۴۰ میلی‌گرم از پودر هیدروکسی آپاتیت موردنظر با ۰/۸ میلی‌لیتر سالین مخلوط و ۱۰۰ میکرولیتر محلول ایتريم کلرید به آن افزوده شد. پس از تکمیل واکنش، بازده نشان‌دارسازی با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه‌ی نازک در حلال سالین، و اندازه‌ی ذرات کلوئید به وسیله‌ی نرم‌افزار MIP مورد ارزیابی قرار گرفت.

پودر هیدروکسی آپاتیت با هفت اندازه‌ی ذرات تهیه شد: کوچک‌تر از ۰/۲ میکرون، ۰/۵، ۱، ۵، ۱۰ میکرون و در محدوده‌های ۱۰ تا ۴۰ میکرون، ۴۵ تا ۶۳ میکرون و ۶۳ تا ۱۲۵ میکرون. از هر یک از این پودرها برای تولید کلوئید دارویی استفاده شد. مساحت متوسط ذرات هر نمونه ۱۰ بار محاسبه شد.

۱۳.۴.۲ اثر موج فراصوتی بر اندازه‌ی ذرات کلوئید $^{90}\text{Y-HAp}$

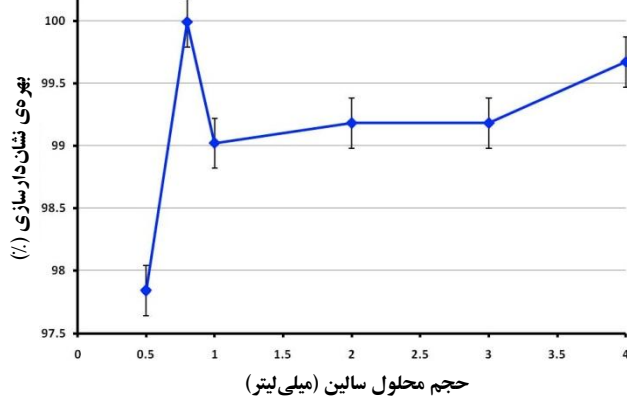
۴۰ میلی‌گرم پودر هیدروکسی آپاتیت با اندازه‌ی معین ذرات، با ۰/۸ میلی‌لیتر سالین به مدت ۵ دقیقه به شدت هم زده شد. این مخلوط پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر محلول ایتريم کلرید به آن، به مدت نیم ساعت به شدت تکان داده شد. سپس با استفاده از سانتریفوژ رسوب‌گیری شد. رسوب حاصل مجدداً با ۱/۵ میلی‌لیتر سالین به صورت سوسپانسیون درآمد. تعداد ۱۲ مخلوط به این ترتیب تهیه و هر یک از آن‌ها در حمام آب آواهنده (با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر) قرار داده شده و دامنه‌های ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد، با زمان‌های ۰/۵، ۱ و ۲ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. در پایان، نمونه‌ها به وسیله‌ی آواهنده همگن شده و برای اندازه‌گیری اندازه‌ی متوسط ذرات، با میکروسکوپ نوری آماده شدند.



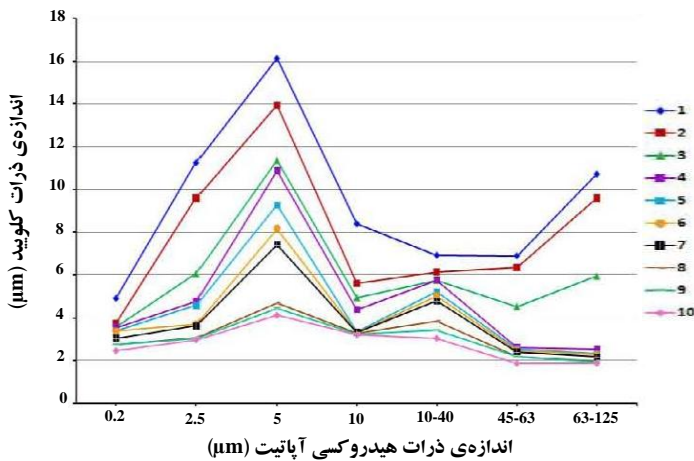
۳. یافته‌ها و بحث

۱.۳ اثر حجم ماده‌ی رقیق‌کننده بر بهره‌ی نشان‌دارسازی

برای تهیه‌ی کلویید $^{90}\text{Y-Hap}$ از محلول سالیین نرمال ۰/۹٪ استفاده شد. این محلول، ایزوتونیک بوده و برای تزریق مناسب است و از طرفی محیط آبی لازم برای مخلوط کردن مواد تشکیل دهنده‌ی رادیودارو را ایجاد می‌نماید. هیدروکسی آپاتیت در این محیط نامحلول است و حجم کل مخلوط بر بهره‌ی نشان‌دارسازی تأثیر می‌گذارد. شکل ۴ رابطه‌ی بین بهره‌ی نشان‌دارسازی و حجم محلول سالیین مورد استفاده در واکنش را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، بهره‌ی نشان‌دارسازی در مورد تمام حجم‌ها، به جز حجم ۰/۵ میلی‌لیتر، بیش از ۹۹٪ بود. با توجه به اثر حجم سالیین، به عنوان یک الکترولیت، بر میزان انبوه شدن ذرات در کلویید، کاهش حجم سالیین، شرایط مناسب‌تری را برای حفظ اندازه‌ی ذرات ایجاد می‌کند [۱۸]. از این‌رو، نتایج حاصل از محاسبه‌ی بهره‌ی نشان‌دارسازی نشان می‌دهد که حجم بهینه‌ی سالیین برای تأمین شرایط مناسب الکترولیتی و بیشینه بودن بهره‌ی نشان‌دارسازی، ۰/۸ میلی‌لیتر است.



شکل ۴. تأثیر حجم ماده‌ی رقیق‌کننده بر بهره‌ی نشان‌دارسازی.



شکل ۵. تأثیر اندازه‌ی ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت بر اندازه‌ی متوسط ذرات کلویید دارویی؛ برای هر یک از اندازه‌های ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت (محور افقی) ده اندازه‌ی متوسط ذره‌ی کلویید نهایی محاسبه شده است.

میکرون قرار گرفت. برای انتخاب بهترین کلویید با مصارف دارویی، پارامتر دیگری را نیز باید در نظر گرفت و آن ریخت‌شناسی ذرات است. از آن‌جایی که پودرهای با اندازه‌ی ذرات واقع در یک گستره عموماً ریخت یکنواختی ندارند، اهمیت پودرهای هیدروکسی آپاتیت تهیه شده تنها در یک اندازه‌ی خاص مشخص می‌شود. با توجه به شکل ۵ و با در نظر گرفتن هر سه پارامتر شرح داده شده، پودر ۱۰ میکرونی بهترین گزینه برای تولید کلویید است، زیرا ذرات کلوییدی حاصل از این پودر همگی کروی بوده و در محدوده‌ی ۳/۲ تا ۸/۴ میکرون قرار می‌گیرند. لازم به ذکر است که پودرهای به کار گرفته شده با اندازه‌ی ذرات بیش از ۴۰ میکرون، کلوییدهای بسیار ناپایدار ایجاد کرده، به سرعت از حالت کلوییدی خارج شده و رسوب می‌کنند. پودر با اندازه‌ی ذرات واقع در بازه‌ی ۱۰ تا ۴۰ میکرون

۲.۳ اثر اندازه‌ی ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت بر کلویید دارویی

از آن‌جایی که هیدروکسی آپاتیت در محیط آبی خنثی، تقریباً نامحلول است ($k_{sp}=2.27 \times 10^{-58}$) [۱۹]، اندازه‌ی ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت مورد استفاده برای تولید کلویید دارویی موردنظر بسیار مهم خواهد بود. هم‌چنین ریخت‌شناسی ذرات هیدروکسی آپاتیت، شکل نهایی ذرات کلویید را تعیین می‌کند. با در نظر گرفتن این واقعیت که تغییر اندازه‌ی ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت در بهره‌ی نشان‌دارسازی تغییر قابل‌ملاحظه‌ای ایجاد نمی‌کند (تمام نمونه‌ها دارای بهره‌ی نشان‌دارسازی ۹۹٪ بودند)، برای انتخاب بهترین شرایط، اندازه‌ی ذرات کلویید نهایی، مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به شکل ۵ دو نکته حایز اهمیت است. نخست این که قطر متوسط ذرات کلویید به دلیل خواص تزریقی ویژه‌ی این رادیودارو نباید از ۱۰ میکرون بیشتر باشد. دوم این که گستره‌ی قطر متوسط ذرات نباید خیلی وسیع باشد. از این‌رو پودر HAp با قطر ذرات ۵ میکرون بدترین حالت را فراهم می‌کند، زیرا ذراتی با اندازه‌های مختلف در گستره‌ی وسیعی از ۴/۱۱ تا ۱۶/۱۳ میکرون ایجاد می‌کند. در مقابل، هنگامی که از پودر هیدروکسی آپاتیت با اندازه‌ی ۰/۲ میکرون استفاده شد، میانگین ذرات کلویید در محدوده‌ی ۲/۴۶ تا ۴/۹۱



شکل ۶. ایجاد هزاران حباب میکروسکوپی بر اثر ارتعاش نوک شیپور آواهنده.

در این جا گرانروی تمام نمونه‌ها مقدار ثابتی است و از نوسانات دمایی نیز با قرار دادن یک حمام آبی جلوگیری به عمل آمده است. با تغییر دادن دامنه‌ی نوسانات نوک شیپور و زمان آوادهی، بهترین مقادیر با توجه به کوچک‌ترین میانگین اندازه‌ی ذرات در کلویید تعیین شده است. مجموعه‌ای شامل دوازده آزمایش که در بخش ۳.۴.۲ شرح داده شد، انجام شد. شکل ۷ قطر متوسط ذرات برحسب دامنه‌ی ارتعاش شیپور آواهنده، رسم شده است. با اعمال دامنه‌های کوچک‌تر و زمان‌های کوتاه‌تر، از خرد شدن ذرات توسط امواج فراصوتی ممانعت به عمل آمده است. نمودارها در زمان‌های ۳۰ ثانیه، یک و دو دقیقه حاصل شده‌اند. کوچک‌ترین قطر ذرات بدون تخریب ریخت کلویید، بهترین دامنه و زمان آوادهی را ارائه می‌دهد. با توجه به شکل ۷ بهترین شرایط برای بالاترین اثربخشی امواج فراصوتی، برای دامنه‌ی ۱۰ درصد و زمان یک دقیقه حاصل شد.

۴.۳ کنترل کیفی $Y-Hap$

کنترل کیفی مستلزم آزمایش‌های ویژه و بررسی‌های متعدد برای حصول اطمینان از اندازه‌ی ذرات، خلوص رادیونوکلیدی، خلوص رادیوشیمیایی و اثربخشی است. آزمایش‌های کنترل کیفی در دو بخش انجام می‌شوند: آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی و زیست‌شناختی. بررسی‌های فیزیکوشیمیایی نشان‌دهنده‌ی میزان خلوص رادیونوکلیدی و ناخالصی‌های رادیوشیمیایی، pH، حالت فیزیکی و اندازه‌ی ذرات نمونه به ویژه در حالت کلوییدی است. برای بررسی توزیع زیست‌شناختی رادیودارو، محل جابه‌جایی رادیوداروی موردنظر در بدن حیوان آزمایشگاهی با استفاده از میزان پرتوزایی در هر یک از اندام‌های بدن از جمله اندام هدف، مورد بررسی قرار می‌گیرد.

نیز با وجود گستره‌ی کوچک اندازه‌ی ذرات کلوییدی (از ۳۰۴ تا ۶۹۳ میکرون)، به دلیل فقدان ریخت یکنواخت، قابل تأیید نیست.

۳.۳ اثر آواهنده

موج فراصوتی از دو جنبه اندازه‌ی ذرات را تحت تأثیر قرار می‌دهد: مدت زمان اعمال موج و دامنه‌ی موج. یک آواهنده شامل سه جزء مهم است: ژنراتور، مبدل و شیپور^(۳). ژنراتور، تپ‌های ولتاژ بالای انرژی با بسامد ۲۰kHz تولید و برای شرایط مختلف بارگذاری نمونه مانند گرانروی و دما، تنظیم می‌کند. مبدل، انرژی الکتریکی را به انرژی مکانیکی تبدیل می‌کند. علامت الکتریکی به واسطه‌ی ویژگی بلورهای پیزوالکتریک، به ارتعاش مکانیکی تبدیل می‌شود. ارتعاشات، تقویت شده و به قسمت پایینی شیپور منتقل می‌شوند. فاصله‌ای که نوک شیپور در هر ارتعاش می‌پیماید، به دامنه‌ی انتخاب شده توسط کاربر بستگی دارد. چنانچه دامنه افزایش یابد، شدت آوادهی افزایش خواهد یافت.

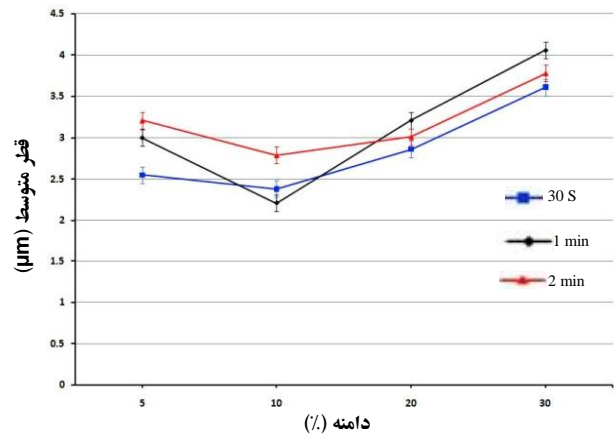
در مایع، ارتعاش سریع نوک شیپور، سبب کاواک‌زایی^(۴) (تشکیل و تخریب آنی حباب‌های میکروسکوپی) می‌شود. تخریب هزاران حباب، مقادیر قابل توجهی انرژی در ناحیه‌ی کاواک‌زایی آزاد می‌سازد (شکل ۶). اثر فرسایش و ضربه‌زنی ناشی از تخریب حباب‌ها، سازوکار اولیه‌ی فرایند آوادهی در محیط مایع است. قطر نوک ردیاب به حجم نمونه وابسته است. ردیاب‌های با قطر کوچک‌تر، آوادهی شدیدتری را فراهم می‌کنند اما تمرکز انرژی در یک ناحیه‌ی کوچک و متراکم خواهد بود. نوک‌های قطورتر می‌توانند حجم‌های بیش‌تری را تحت تأثیر قرار دهند اما شدت آوادهی کوچک‌تری را تأمین خواهند کرد. انتخاب یک شیپور مناسب برای یک کاربرد خاص، بسیار مهم است و هرگز نباید نادیده گرفته شود. استفاده‌ی نادرست از یک شیپور با اندازه‌ی نامناسب، ممکن است به طور قابل توجهی زمان آوادهی را طولانی کرده و یا از تحت تأثیر قرار گرفتن مناسب نمونه ممانعت کند. نوک شیپور در هوا هیچ‌گونه مقاومتی نداشته و برای به ارتعاش در آمدن، توان اندکی لازم دارد. در یک مایع گران‌رو مانند روغن، توان بیش‌تری برای حفظ دامنه در یک مقدار معین مورد نیاز است. این مقاومت در مقابل حرکت شیپور، تعیین‌کننده‌ی توان لازم است.



نزدیک لبه‌ی فوقانی بالا آمد (R_f = ۰,۹). مقدار R_f برای ^{۹۰}Y از طریق آزمایش مشابهی برای محلول خالص ^{۹۰}YCl_۳ به دست آمده است. سپس کاغذ کروماتوگرافی، برش داده شده و فعالیت پرتوزایی هر بخش به طور جداگانه ثبت شد. با توجه به فعالیت کل لکه‌ی اولیه، درصد ^{۹۰}Y آزاد در کلویید تعیین و از آنجا بهره‌ی نشان‌دارسازی کلویید مشخص شد. چهار نمونه‌ی مشابه به مدت سه روز پس از هر بار اندازه‌گیری، خلوص رادیوشیمیایی بالاتر از ۹۹ درصد را نشان داد. با توجه به این نتایج می‌توان گفت که در محیط آزمایشگاهی، رادیوداروی تولید شده، به لحاظ شیمیایی بسیار پایدار است. برای بررسی پایداری کلویید از نقطه نظر اندازه‌ی ذرات نیز سه نمونه‌ی کلوییدی پس از نگه داشته شدن به مدت ۳ روز در حلال سالین در آزمایشگاه، با میکروسکوپ بررسی شدند. هیچ‌گونه تغییر قابل توجهی در اندازه‌ی ذرات کلویید حاصل نشد.

۴. نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی حجم ماده‌ی رقیق‌کننده با استفاده از محلول سالین نرمال ۰,۹٪ نشان داد که در حجم ۰,۸ میلی‌لیتر بهره‌ی نشان‌دار شدن تقریباً ۱۰۰٪ بود. در این محدوده، pH حدود ۷ بود. قابل ذکر است pH = ۷ از لحاظ فیزیولوژیکی مناسب‌تر است و بدین جهت در مرحله‌ی نشان‌دار کردن، محلول ^{۹۰}YCl_۳ مستقیماً به هیدروکسی آپاتیت اضافه شد. مطالعه‌ی دقیق بر روی ذرات هیدروکسی آپاتیت با مقدار متغیر ^{۹۰}Y نشان داد که مقدار ^{۹۰}Y به کار رفته، بر روی بهره‌ی تشکیل کمپلکس تأثیر چندانی ندارد. اندازه‌ی اولیه‌ی ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت، ۱۰ میکرون انتخاب شد تا بهترین بهره‌ی نشان‌دارسازی و یکنواخت‌ترین ریخت برای ذرات کلویید حاصل شود. از طرفی تأثیر امواج فراصوتی و مدت زمان آواده‌ی بر قطر متوسط ذرات کلویید ^{۹۰}Y-HAp مورد بررسی قرار گرفت که بهترین شرایط برای بالاترین اثربخشی امواج فراصوتی، در دامنه‌ی ۱۰ درصد و زمان یک دقیقه حاصل شد.



شکل ۷. تأثیر زمان و دامنه‌ی آواده‌نده بر اندازه‌ی متوسط ذرات کلویید ایتريم-HAp.

کلوییدهای دارویی تولید شده، مساحت سطح متوسطی در محدوده‌ی ۱۸,۵ تا ۳۵,۶ میکرومتر مربع از خود نشان دادند که با توجه به کروی بودن شکل هندسی ذرات (شکل ۳) با استفاده از رابطه‌ی زیر، محدوده‌ی قطر آن‌ها بین ۴,۳ و ۶,۰ میکرون تخمین زده شد

$$R = \sqrt{\frac{4A}{\pi}} \quad (1)$$

که در آن، R قطر ذرات برحسب میکرون و A مساحت سطح اندازه‌گیری شده برحسب میکرومتر مربع است.

خلوص رادیوشیمیایی ماده‌ی پیش‌ساز ایتريم-۹۰ کلرید، بیش از ۹۷٪ است. سنجش خلوص رادیوشیمیایی و پایداری کلویید ایتريم نیز نتایج نشان داده شده در جدول ۱ را به دست داد. این نتایج، با بهره‌گیری از روش کروماتوگرافی لایه‌ی نازک و با استفاده از کاغذ واتمن III به ابعاد ۱۲cm×۱۲cm و حلال سالین به دست آمده است. حدود ۵ میکرولیتر از کلویید بر روی نقطه‌ای در حدود ۱cm بالاتر از لبه‌ی پایینی کاغذ کروماتوگرافی چکانده شد. پس از خشک شدن این لکه، کاغذ داخل حلال سالین در یک بانک شیشه‌ای قرار داده شد. ^{۹۰}Y-HAp در انتهای پایینی کاغذ باقی ماند (R_f = ۰) اما ^{۹۰}Y به همراه حلال، تا

جدول ۱. خلوص رادیوشیمیایی و پایداری رادیودارو تا سه روز

روز سوم	روز دوم		روز اول		نویت				
شمارش ^{۹۰} Y-HAp	شمارش آزاد ^{۹۰} Y	شمارش ^{۹۰} Y-HAp	شمارش آزاد ^{۹۰} Y	شمارش ^{۹۰} Y-HAp	شمارش آزاد ^{۹۰} Y				
۹۹,۷۳٪	۴۰۶۹۱	۱۱۴	۹۹,۸۱٪	۳۸۶۶۴۵	۷۲۶	۹۹,۸۵٪	۶۹۵۹۶۱	۱۰۴۴	۱
۹۹,۸۱٪	۱۵۳۳۹۸	۲۹۲	۹۹,۹۰٪	۳۸۲۷۵۸	۳۸۸	۹۹,۹۳٪	۶۴۳۱۰۳	۴۴۳	۲
۹۹,۵۸٪	۷۱۷۱۵	۳۰۵	۹۹,۶۲٪	۱۰۳۵۸۸	۴۰۰	۹۹,۷۳٪	۱۷۴۶۵۱	۴۶۹	۳
۹۹,۲۵٪	۵۳۲۷۵	۴۰۲	۹۹,۴۱٪	۲۱۳۱۰۰	۱۲۷۲	۹۹,۹۷٪	۵۷۶۶۷۴	۲۰۱	۴



پی‌نوشت‌ها:

۱. Rheumatoid Arthritis
۲. Phagocytosis
۳. Horn
۴. Cavitation

مطالعات پایداری رادیوشیمیایی کلویید $^{90}\text{Y-Hap}$ با قرار دادن آن در سرم انسانی، در دمای اتاق بررسی شد. در زمان‌های متفاوتی اجزای نشان‌دار شده‌ی داخل مخلوط، با سانتریفوژ جدا شده و فعالیت پرتوزایی آن‌ها اندازه‌گیری شد. براساس نتایج حاصل، ۳ تا ۲ درصد از کل پرتوزایی ذرات نشان‌دار شده وارد محلول شد. تهیه‌ی $^{90}\text{Y-Hap}$ با بهره‌ی بالا با استفاده از روش بهینه‌شده، امکان‌پذیر است. در مجموع با تسهیل روند تهیه، ایجاد بهترین شرایط تهیه، بالا بردن خلوص رادیوشیمیایی و افزایش پایداری رادیودارو در محیط شیمیایی، امید آن می‌رود که با تکمیل داده‌های زیست‌شناختی و بهینه‌سازی شرایط حاکم بر آزمایش‌های حیوانی، شاهد نتایج چشمگیری در فاز بالینی در آینده‌ای نه چندان دور باشیم.

منابع:

1. G. Modder, Radiosynoviorthesis-involvement of nuclear medicine in rheumatology and orthopaedics, Germany: Warlich Druck und Verlagsges (1995).
2. B.K. DAS, P.K. Pradhan, A.K. Shukla, R. Misra, Role of radiosynovectomy in rheumatoid arthritis, J. Indian Rheumatol Assoc, 12 (2004) 98-103.
3. O.T. Makela, M.J. Lammi, H. Usitalo, P. Penttila, E. Kolehmainen, A. Sukura, S. Sankari, R.M. Tulamo, Experimental radiation synovectomy in rabbit knee with holmium-166 ferric hydroxide macro aggregate, Nucl. Med. Biol, 29 (2002) 593-598.
4. S. Ofluoglu, E. Schwameis, H. Zehetgruber, E. Havlik, A. Wanivenhaus, I. Schweeger, K. Weiss, H. Sinzinger, C. Pirich, Radiation synovectomy with (166) Ho-ferric hydroxide: a first experience, J. Nucl. Med, 43 (2002) 1489-1494.
5. H.J. Siegel, J.V. Jr Lock, M.E. Siegel, C. Quinones, Phosphate-32 colloid radiosynovectomy in hemophilia: outcome of 125 procedures, Clin. Orthop. Relat. Res, 392 (2001) 409-417.
6. K. Kothari, S. Suresh, H.D. Sarma, V. Meera, M.R.A. Pillai, ^{188}Re -labeled hydroxyapatite particles for radiation synovectomy, Appl. Radiat. Isot, 58 (2003) 463-468.
7. C.Y. Shin, M. Son, J.I. Ko, M.Y. Jung, I.K. Lee, S.H. Kim, W.B. Kim, J.M. Jeong, Y.W. Song, DA-7911, 188-Rheniumtin colloid, as a new therapeutic agent of rheumatoid arthritis, Arch. Pharm. Res, 26 (2003) 168-172.
8. B.C. Shin, K.B. Park, B.S. Jang, S.M. Lim, C.K. Shim, Preparation of ^{153}Sm -chitosan complex for radiation synovectomy, Nucl. Med. Biol, 28 (2001) 719-725.
9. S. Srivastava, E. Dadachova, Recent advances in radionuclide therapy, Semin. Nucl. Med, 31 (2001) 330-341.
10. C. Lueders, M. Kopec, K. Morstin, T. Schmitz, L.E. Feinendegen, Die radiosynoviorthese anwendung und durchfuhrung unter Besonderer Berücksichtigung dosimetrischer aspekte, Akt. Rheumatol, 17 (1992) 74-81.
11. W.M. Baker, The formation of abnormal synovial cysts in connection with the joints, St Bartholomew's Hosp. Rep, 21 (1885) 177-190.
12. U. Pandey, K. Bapat, H. Dev Sarma, P.S. Dhama, P.W. Naik, G. Samuel, M. Venkatesh, Bioevaluation of ^{90}Y -labeled particles in animal model of arthritis, Ann. Nucl. Med, 23 (2009) 333-339.
13. P. Schneider, J. Farahati, C. Reiners, Radiosynovectomy in rheumatology, orthopedics, and hemophilia, J. Nucl. Med, 46 (2005) 48S-54S.
14. F.W.S. Webb, J. Lowe, R. Bluestone, Uptake of colloidal radioactive yttrium by synovial membrane, Ann. Rheum. Dis., 28 (1969) 300-302.



15. A.M. Isomaki, H. Inouhe, M. Oka, Uptake of 90-Yttrium resin colloid by synovial cells and synovial membrane in rheumatoid arthritis, *Scand. J. Rheum*, 1 (1972) 53-60.
16. M. Khalid, A. Mushtaq, Preparation and in vitro stability of (n, γ) Yttrium-90 hydrony apatite, *Appl. Radiat. Isot*, 62 (2005) 587-590.
17. J.M. Hughes, M. Cameron, K.D. Crowley, Structural variations in natural F, OH, and Cl apatites, *American Mineralogist*, 74 (1989) 870-876.
18. Gopal B. Saha, *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*, 5th Ed., Springer-Verlag NY, Translated by: M. Ghannadi Maragheh, R. Gholipour Peyvandi and A. Bahrami Samani (2003).
19. R. LeGeros, *Biologically relevant calcium phosphates: preparation and characterization, calcium phosphates in oral biology and medicine*, Basel: Karger, 31 (1991).