J. of Nuclear Sci. and Tech.
No. 40, pp. 34-40, 2007

مجله علوم و فنون هسته‌ای
شماره ۴۰، صفحات ۴۰-۳۴، ۱۳۸۶

ارزیابی توزیع بیولوژیکی پرتو داروی IPPA - 131 با تصویربرداری در بافتهای قلبی و غیر قلبی حیوانات آزمایشگاهی

صدیقه مرادخانی* ، فریبا سدادی، میترا مطلوبی، امیررضا جلیلیان، کمال‌الدین شفایی، علیرضا کریمیان، سعید دانشوری
پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی ۴۹۸- ۳۱۴۸۵، کرج-ایران

چکیده: در بررسی بیماریهای قلب، تعیین متابولیسم آن علاوه بر وضعیت خونرسانی عامل بسیار مهمی در تشخیص وضعیت اکثر بیماریهای قلب و عروق می‌باشد. در این میان تعیین وضعیت بیماریهایی مانند بیماری ایسکمی قلب (اختلال در خونرسانی عضله قلب) کاردیومیوپاتی (اختلال در عملکرد عضله قلب) و بیماریهای ناشی از ازدیاد فشار خون از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. امروزه در اکثر کشورهای پیشرفته، جهت تعیین متابولیسم قلب از روشهای PET استفاده می‌کنند ولی از آنجا که این سیستم تصویربرداری پرهزینه بوده و در اکثر مراکز موجود نیست می‌توان از نشاندارسازی اسید چرب IPPA (یدو فنیل پنتا دکانوئیک اسید) با یُد رادیوآکتیو برای بررسی متابولیسم قلب، که مکمل سایر روشهای موجود است کمک گرفت. تمام مراحل آزمایشگاهی آن بر روی حیوانات آزمایشگاهی با یُد ۱۳۱ صورت گرفت؛ عمل نشاندار شدن IPPA با یُد ۱۳۱ و تعیین خلوص شیمیایی آن با HPLC توسط گروه شیمی سیکلوترون انجام شد و در زمانهای مشخص، پس از تزریق مقدار معینی از پرتوداروی مورد نظر، عمل تصویربرداری صورت گرفت و توزیع بیولوژیکی پرتودارو در ارگانهای مختلف بررسی شد. در تصاویر اولیه جذب (Uptake) تیروئیدی نسبتاً بالا بود که در مراحل بعد، از محلول لوگل برای حذف جذب تیروئیدی و اصلاح تصویر استفاده شد و در تصاویر بعدی جذب مناسبی در قلب که ارگان هدف بود مشاهده گردید.

***واژه‌های کلیدی:** اسید چرب، IPPA - 131، متابولیسم قلبی، توزیع بیولوژیکی، جذب تیروئید*

Assessment of Biodistribution of 131-IPPA in Cardiac and Non-Cardiac Tissues in Laboratory Animals by Imaging

S. Moradkhani*, F. Sadadi, M. Matluobi, A.R. Jalilian, K. Shafaie, A.R. Karimian, S. Daneshvari
Agricultural, Medical and Industrial Research School, Science and Technology Research Instiute, AEOI, P.O.Box: 31485-498, Karaj-Iran

Abstract: The main substrate of myocardial metabolism is fatty acids which constitutes the principal agent for myocardial consumption and provides almost 60-80% of the energy utilized by the heart in the resting state. Evaluation of cardiac metabolism is important for the assessment of some of cardiac disorders such as Ischemic Heart disease (IHD), cardiomyopathy (functional disorders) and Hypertensive cardiac disorders. Today, almost in all of the developed countries, PET is the first step for diagnosis and assessment of cardiac metabolic disorders. It is, however, too expensive to be used in all centers and are not available in all countries. In this regards, 123-IPPA was introduced as a substitute of PET system for evaluation of cardiac function (metabolism) and it is a complementary method for other Para-clinical methods. We decided to have a preliminary study on IPPA and due to the lack of 123-I, we had to use 131-I. The labeling of IPPA by 131-I, purification and sterilization of 131-IPPA done by the Chemistry Group of Cyclotron Ward and the bio-kinetic and imaging of rat, mice (Laboratory Animals) were performed in the Nuclear Medicine Group. After injection of a proper dose of this radiotracer, the imaging was performed in an appropriate time. In our first images, there were intensive accumulation of tracer in animals' thyroid glands, though after the intake of Lugol solution, the thyroid did not appeare and we had a number of excellent images of animal heart that was the target organ.

***Keywords:** Free Fatty Acid, 131–IPPA, Cardiac Metabolism, Biological Distribution, Thyroid Uptake*

*email: smoradkhani@nrcam.org

تاریخ دریافت مقاله: ۸۴/۹/۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۲/۵

۱- مقدمه

در شرایط طبیعی اسیدهای چرب آزاد اولین منبع انرژی در سلولهای عضله قلب [۱] به حساب می‌آیند، اما در شرایط غیر طبیعی همانند موارد اختلال خونرسانی [۲] و یا مرگ سلولی [۳] عضله قلب، متابولیسم اسید چرب در میوکارد تغییر می‌یابد و از همین تغییرات می‌توان به تشخیص و ضعیت قلب پی برد [۱، ۲ و۳].

مصرف کربوهیدراتها و لیپیدها، در عضله قلب رابطه‌ای نزدیک با تولید انرژی در قلب دارد، اما زمانی که هر دوی این مواد در یک زمان موجود باشند، در شرایط ناشتا، ترجیحاً FFA[۴] نسبت به گلوکز استفاده می‌گردد. بنابراین با بررسی‌های صورت گرفته، مشخص شده است که FFA رادیویدینه (نشاندارشده با یْد) برای تصویربرداری از عضله قلب و بررسی غیرتهاجمی متابولیسم اسیدهای چرب موجود در قلب مناسب است. امروزه در بسیاری از موارد از سیستم تصویربرداری به روش ایزوتوپی در بررسی بیماریهای قلبی استفاده می‌کنند که از جمله این موارد می‌توان به ارزش بالای سیستم PET [۵] اشاره کرد. اما به دلیل قیمت بالای آن در هر مکان نمی‌توان آن استفاده کرد، به همین دلیل از پرتو داروهایی که به سهولت قابل دسترس بوده و هزینه بالایی برای بیماران قلبی نداشته باشند استفاده می‌شود.

استفاده از اسیدهای چرب در بررسی بیماریهای قلبی از جمله ازدیاد فشار خون، اختلال در عملکرد عضله قلب[۶]، بیماری ایسکمی قلب، همچنین در تعیین میزان حیات سلولهای عضلانی قلب[۷] کاربرد دارد [۴، ۵ و۶]. ارزیابی خونرسانی و حیات سلولهای عضلانی قلب اثر مهمی بر نتیجه درمان و پیش آگهی بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونر قلب دارد.

نشاندارسازی اسیدهای چرب آزاد بیشتر با یْد ۱۲۳ یا ۱۳۱ انجام می‌گیرد [۷ و ۸]. مشتقات اسیدهای چرب فراوانی، از جمله IPPA-IMPDA-BMIPP و. . . شناسایی شده‌اندکه با یْد رادیوآکتیو نشاندار می‌شوند [۹ و ۱۰].

یکی از این پرتو داروها ترکیب نوعی اسید چرب به نام IPPA[۸] با یْد است و هدف از این مطالعه، امکان‌سنجی ساخت و تهیه این پرتودارو و مهمتر از آن بررسی رادیو فارموکینتیتک این پرتو دارو در بدن بر روی اعضایی چون قلب، کبد، طحال و کلیه‌ها در مدل حیوانی است که ممکن است پایه‌ای جهت بررسیهای بعدی در مدل انسانی باشد.

در این بررسی ما بطور آزمایشی از I^{131} استفاده کرده‌ایم و اسید چرب مورد استفاده نیز مشتق ۴-یدوفنیل پنتادی‌کانوئیک‌اسید بود. نمونه‌های مورد آزمایش تعدادی موش صحرایی (Rat) و تعدادی خرگوش آزمایشگاهی بودند. توزیع بیولوژیکی پرتودارو در اعضای مختلف و از همه مهمتر در تعیین فیزیولوژی قلب در مدلهای حیوانی با روش تصویربرداری مورد مطالعه قرار گرفت. در این پژوهش مواردی همچون نسبتهای هدف به زمینه، قلب به ریه، قلب به کبد و قلب به تیروئید بطورکمی مورد بررسی قرار گرفتند.

۲- روش کار

۲-۱ پرتودارو

عمل نشاندار شدن IPPA (یدوفنیل پنتادی‌کانوئیک‌اسید) توسط همکاران ما در گروه شیمی بخش سیکلوترون مرکز کرج صورت گرفت. روش شیمیایی تهیه IPPA* به این ترتیب انجام شد که برای تهیه آن از ۰/۵ میلی‌گرم پارا- IPPA به عنوان ماده اولیه استفاده شد. این ماده اولیه به شکل محلول در ۱ میلی‌لیتر اسید استیک تهیه می‌شود. سپس مخلوط ۱/۳۶ میلی‌گرم اسکوربیک اسید ($C_6H_8O_6$) و ۵ میکروگرم $Cu(NO_3)_2 3H_2O$ به شکل محلول در آب (۳ میلی‌گرم در ۶ میلی‌لیتر H_2O) به عنوان اکسیدکننده به آن اضافه می‌گردد.

به این مخلوط، محلول ۱۰ میلی‌کوری رادیوآکتیویته یْد ۱۳۱ اضافه می‌شود تا به کمک اکسیدکننده‌های ذکر شده یْد ۱۳۱ جایگزین ایزوتوپ پایدار یْد در P- IPPA شود.

اسید استیک موجود در محلول به وسیله گرما و دمیدن گاز N_2 تبخیر می‌شود و باقیمانده واکنش در مخلوط آب و اتانول حل می‌گردد. آنگاه پس از انجام کنترل کیفی روی این محلول، آن را به ۵µl محلول آبی ۵٪ سرم انسانی آلبومین اضافه کرده و محصول نهایی قابل تزریق بدست خواهد آمد.

۲-۲ کنترل کیفی

برای بررسی خواص رادیوشیمیایی ترکیب حاصل از روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) بر روی فاز ثابت سیلیکا با فاز متحرک اتانول: آب: اسیدسیتریک (۷/۸: ۱/۸: ۰/۲ حجمی)

استفاده شد. در این حالت پرتودارو در RF حدود ۰/۶۳ ظاهر می‌گردد و در فاز متحرک استو نیتریل: بافر فسفات: تترابوتیل آمونیوم هیدروکسید (۲: ۷/۵ : ۲/۵ حجمی) نیز درRF حدود ۰/۷۳ بدست آمد. در هر دو سیستم کنترل کیفی خلوص بالای ۹۹٪ پرتو دارو تأیید گردید. شمارش‌ها بر اساس پیک ۳۶۴keV بر روی سیستم ژرمانیوم با خلوص بالا انجام شد. هر آزمون حداقل ۵ بار تکرار شد. در تمام موارد یُد آزاد در RF حدود ۰/۱-۰ قرار گرفت که همه با کمتر از ۱٪ ناخالصی گزارش می‌شوند.

۲-۳ توزیع بافتی

از دو مدل حیوانی موش صحرایی (Rat) و خرگوش جهت این مطالعه استفاده شد.

موشهای مورد آزمایش همگی نر و از نژاد Wistar، با میانگین وزن ۳۳۰±۵۰gr بودندکه بمدت ۲۴ ساعت قبل از آزمایش تحت شرایط ناشتا قرار گرفتند.

تزریق وریدی پرتوداروی IPPA* به صورت تزریق سریع[۹] به میزان ۳۰۰µCi/۳۰۰µl صورت گرفت و پس از بیست دقیقه با پنبه آغشته به اتر بیهوش شدند و تصویربرداری هر نیم ساعت تا سه ساعت پس از تزریق صورت گرفت و در نهایت، ۲۴ ساعت پس از تزریق یک تصویربرداری انجام شد.

در تصاویر حاصل، جذب تیروئیدی به علت استفاده از رادیونوکلئید یُد بسیار بالا بود و بطور ناخواسته بخش عمده ردیاب[۱۰] در تیروئید متمرکز شده بود. برای اصلاح این امر در تصویربرداری‌های بعدی از محلول خوراکی لوگل به میزان ۰/۳ سی‌سی، ۱۵ دقیقه قبل از تست استفاده شد که موجب اشباع تیروئید از یُد آزاد و مانع تجمع ردیاب در تیروئید شد. در این سری از تصاویر بخش اعظم ردیاب در قلب تجمع یافت، سایر مناطقی که پرتودارو در آنها تجمع داشت، کبد، طحال، کلیه، معده، ریه و مثانه بودند.

از مدل خرگوش نیز جهت بررسی مجدد توزیع پرتو دارو استفاده شد.

خرگوشهای مورد آزمایش نر و از نژاد Deutsch با وزن تقریبی ۲/۵ کیلوگرم بودند که تحت شرایط ناشتا از ۲۴ ساعت قبل از آزمایش قرار گرفتند.

تزریق وریدی پرتوداروی IPPA* به میزان ۱mCi به صورت «Bolus» از ناحیه گوش صورت گرفت بیست دقیقه بعد با استفاده از ترکیبی از داروهای بیهوشی ۲٪ xylazine و Ketamine Hydrochloride به میزان ۰/۷ سی‌سی تحت بیهوشی قرار گرفتند و تصویربرداری هر نیم ساعت تا سه ساعت پس از تزریق صورت گرفت و در نهایت یک تصویر ۲۴ ساعت پس از تزریق گرفته شد و توزیع بیولوژیکی ردیاب در ارگانهای مختلف خرگوش همانند مدل Rat مورد بررسی قرار گرفت.

کلیه تصویربرداری‌ها در پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی با کمک دستگاه دوربین گاما Dual head gamma camera SPECT ساخت شرکت SMV مدل DST-XL انجام گرفت (جدول۱).

۳- نتایج

بررسی توزیع ردیاب در اندام‌های مختلف خرگوش در مدتهای سی دقیقه و ۳ ساعت و ۲۴ ساعت با تعیین میزان آکتیویته در هر عضو و با رسم ROI و پیکسل (واحد تصویری) ۲ در ۲ تهیه و میزان شمارش در هر واحد تصویری (count/pixel) بدست آمد.

بالاترین شمارش از ناحیه قلب بود. در اعضایی که بطور واضح جذب مشخصی در تصویر نداشتند محدوده اعضاء در نظر گرفته شد.

جدول۱- مشخصات تصویری تهیه شده با دوربین گاما.

نوع تصویر	نوع کلیماتور	فتوپیک انرژی γ I-131	Matrix Size	Camera magnification	Pixel Size (mm)	Slice thickness	Time
Plannar	High Energy	365 keV	64×64	1	9.02	1	300 sec

بعد از قلب به ترتیب نزولی: ریه چپ، معده، طحال، ریه راست، کلیه چپ، کلیه راست، تیروئید و مثانه بالاترین شمارش را داشتند.

بررسی در تصویرهای بعدی که به فاصله زمانی هر سی دقیقه انجام شده بود نشان داد که شمارش تیروئید بطور چشمگیری رو به افزایش است و در تصویری که به فاصله زمانی سه ساعت صورت گرفته بود حدود سه برابر شمارش اولیه بود. در تصویر به فاصله زمانی ۲۴ ساعت همچنان با افزایش شمارش قابل توجهی در تیروئید روبرو شدیم و این به ما ثابت کرد که در صورت عدم استفاده از لوگل با روند رو به افزایش و ناخواسته تمرکز رديا‌ب در تیروئید روبرو خواهیم شد و برخلاف تصور، تخلیه تیروئید در طی مدت مورد بررسی ما صورت نگرفت (شکلهای ۱، ۲، ۳ و نمودار ۱).

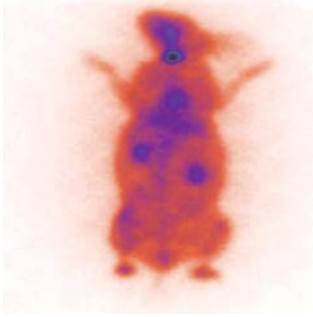
همچنین با بررسی توزیع رديا‌ب در اندامهای مختلف Rat قبل از استفاده از محلول لوگل بالاترین جذب در ناحیه قلب و پس از آن به ترتیب نزولی در معده، تیروئید، کلیه راست، ریه، کبد، طحال، کلیه چپ و مثانه مشاهده شد. اختلاف شمارش بین تیروئید و قلب چندان قابل توجه نبود (شکلهای ۴ و ۵).

با استفاده از محلول لوگل به این نتیجه رسیدیم که در صورت استفاده از آن، جذب در قلب افزایش یافته و اختلاف شمارش آن با شمارش تیروئید میزان قابل توجهی خواهد بود.

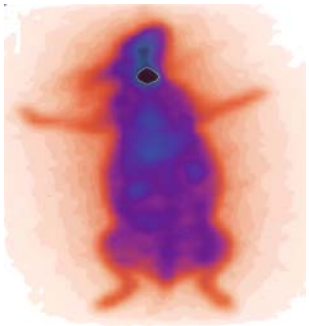
نمودار مقایسه قبل و بعد از استفاده از محلول لوگل (نمودار ۲) و همچنین کنار هم قراردادن نمودار شمارش قبل از استفاده از لوگل به مجموع قبل و بعد از استفاده از آن و نمودار شمارش بعد از استفاده لوگل به مجموع قبل و بعد از استفاده از آن (نمودارهای ۳ و ۴) ثابت می‌کند که در صورت استفاده از این محلول قبل ازآزمون، افزایش شمارش مؤثری در قلب خواهیم داشت. در زمان ۳۰ دقیقه نسبت شمارش قلب به ریه ۱/۰۲، قلب به کبد ۱/۲۶ و قلب به تیروئید ۱/۴۸ و در زمان سه ساعت این نسبت‌ها به ترتیب ۱/۱۶ – ۱/۵۳ و ۰/۵۲ بود.

۴- بحث و نتیجه‌گیری

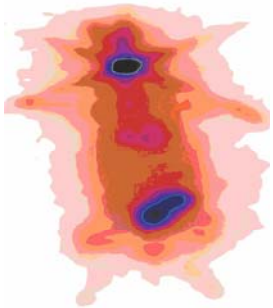
با این مطالعه اهمیت این گونه از رديا‌ب‌ها را می‌توان درک کرد. IPPA در بدن کاتابولیزه می‌شود و به بنزوئیک اسید تبدیل می‌گردد، سپس خود به گلوکورونیک و هیپوریک اسید



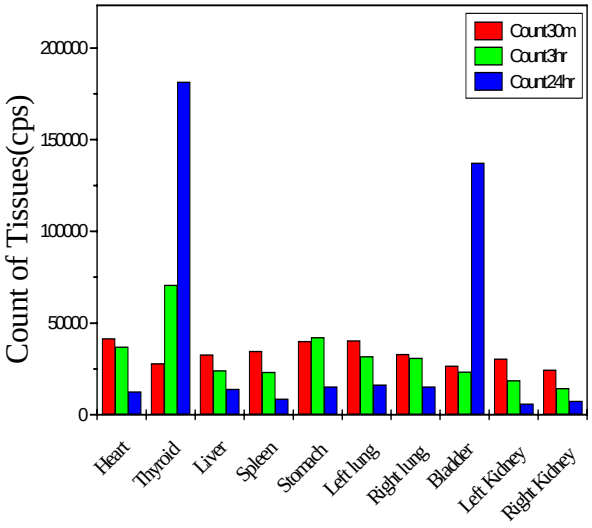
شکل ۱ – سی دقیقه بعد از تزریق رادیو دارو.



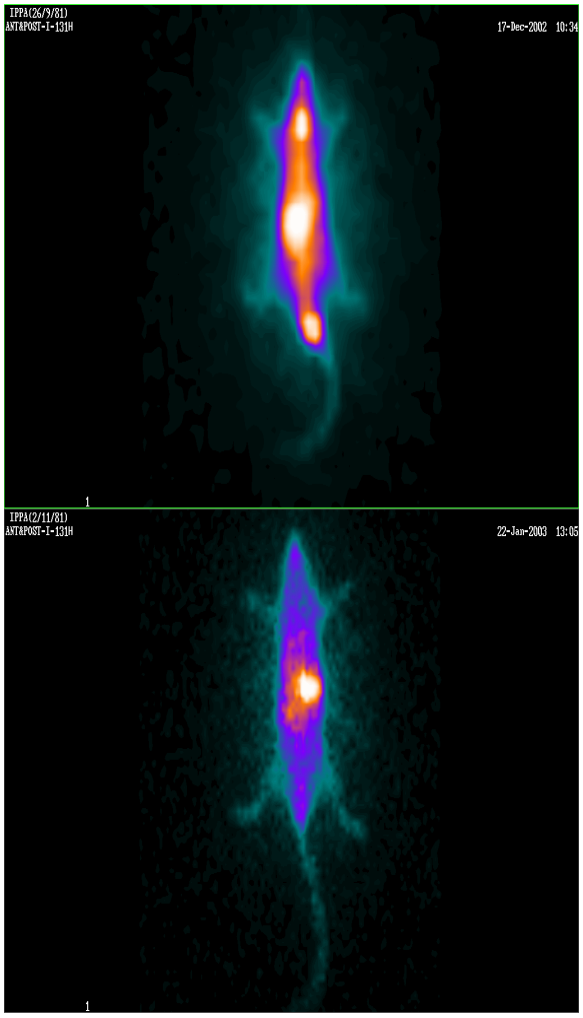
شکل ۲– سه ساعت پس از تزریق رادیودارو.



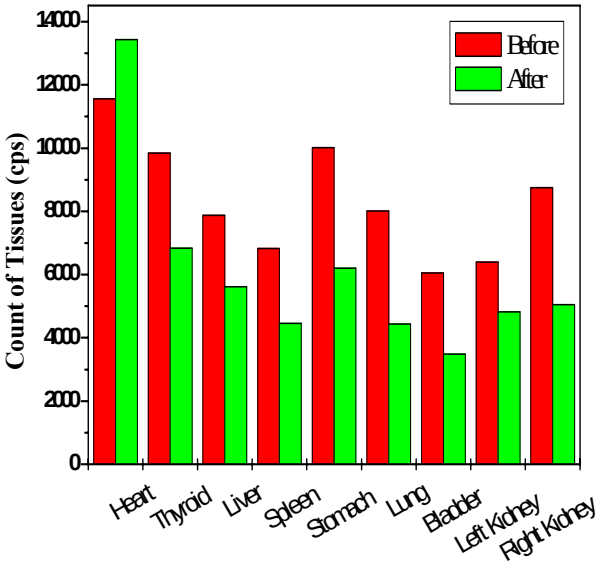
شکل ۳– ۲۴ساعت پس از تزریق رادیودارو .



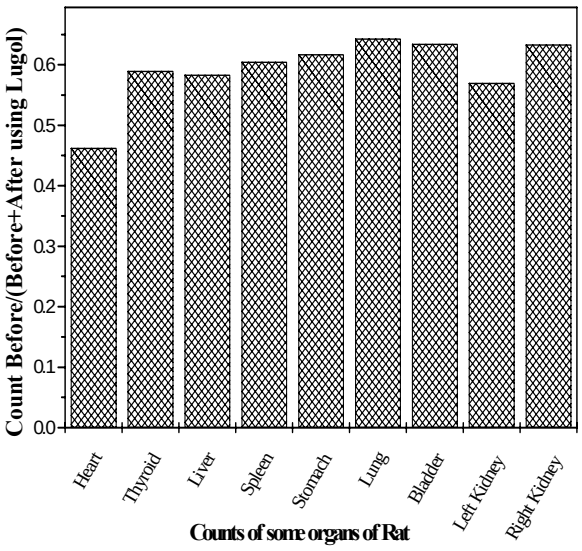
نمودار ۱– شمارش اعضای خرگوش در زمانهای مختلف.



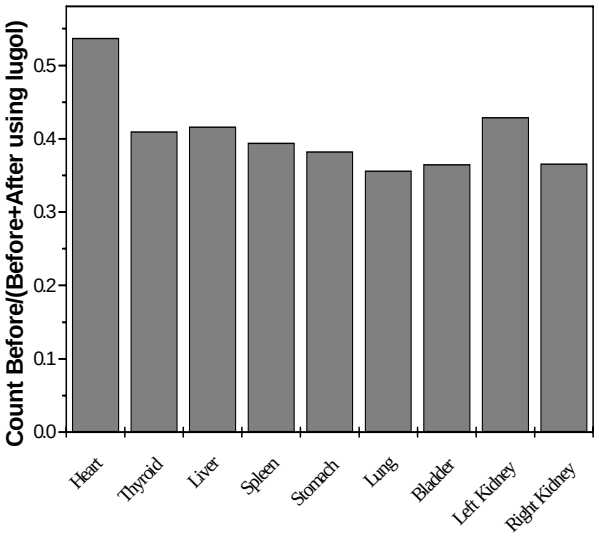
شکل‌های ۴ و ۵- تصاویر قبل و بعد از استفاده از محلول لوگل.



نمودار ۲- نتایج قبل و بعد از استفاده از محلول لوگل در موش.



نمودار ۳- شمارش قبل (قبل + بعد از استفاده از محلول لوگل) در موش.



نمودار ۴- شمارش بعد (قبل + بعد از استفاده از محلول لوگل) در موش.

تبدیل می‌شود که در کبد انجام می‌گیرد و یک سری نیز به ترکیبات پارایدو تبدیل می‌گردند که از راه ادراری (کلیه‌ها) دفع می‌شوند و این خود دلیل جذب ردیاب در کبد و کلیه‌ها می‌باشد. اولین سرنوشت متابولیکی اسید چرب در قلب اکسیداسیون اولیه است و IPPA نیز سرنوشت مشابهی را طی می‌کند.

بعد از تزریق، IPPA به سرعت در مدت زمان ۵ دقیقه از راه خون جذب اعضا مختلف بدن می‌شود. پس از ۲ دقیقه ۴٪ از میزان پرتودارو در بافت قلب متمرکز شده و پس از ۳۰ دقیقه بالاترین تجمع را در ناحیه قلب دارا بوده، سپس به سرعت شسته و پاک می‌گردد.

در حالیکه در کبد جذب آهسته‌تری داشته و مدت زمان تمرکز در آن نیز طولانی‌تر بوده و شسته شدن آن از کبد آهنگ کندتری نسبت به قلب دارد. در کلیه‌ها نیز این آهنگ تجمع کند می‌باشد.

ماکزیموم تجمع ردیاب در قلب در مدت ۳۰ دقیقه بعد از تزریق می‌باشد و از نتایج بدست آمده مشخص می‌شود که پرتوداروی فوق میزان جذب بالایی در قلب (عضو هدف) دارد، لذا می‌توان از IPPA (اسیدهای چرب نشاندار) در بررسی ضایعات قلبی به ویژه بیماریهای عضلانی قلب مانند اثرهای ایسکمی ناشی از بیماری کرونری بر روی عضله قلب استفاده کرد که در امر تشخیص میزان حیات قلب بعنوان جایگزین روش PET می‌تواند بسیار مؤثر باشد. لذا IPPA به عنوان یک وسیله مطالعاتی متابولیسم قلب منظور می‌شود و بی‌شک مطالعات بالینی بسیاری لازم است تا به نقش این ردیاب در بیماری پی برد.

برای نیل به یک تصویر مناسب از قلب، مشخص شد که محلول lugol ممکن است در امر بهینه‌سازی کیفیت و بالا بردن وضوح تصویر و در نتیجه، تهیه میزان شمارش CPS مناسب از عضو هدف، مؤثر باشد.

بهترین زمان تصویربرداری از قلب پانزده دقیقه بعد از مصرف محلول لوگل و سی دقیقه بعد از تزریق ردیاب خواهد بود که در این مدت بالاترین شمارش را از عضو هدف (SNR>2)target/Background بدست می‌آوریم و طول مدت تصویربرداری[۱۱] پنج دقیقه کافی است. یعنی می‌توان در یک زمان نسبتاً کوتاه بیشترین اطلاعات را از عضو هدف بدست آورد.

در آینده درصدد بررسی متابولیسم قلب بر روی بیماران به وسیله ^{123}I-IPPA هستیم که به دلیل امکان تجویز دز بالاتری از این ردیاب به بیمار (به دلیل میزان انرژی مناسب و نیمه عمر پایین) بدست آوردن تصاویری با کیفیت مطلوب‌تر امکان‌پذیر خواهد بود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری صمیمانه مهندس پژمان روشن فرزاد، مهندس بهرنگ مصلی، مهندس فاطمه بلوری‌نوین و سرکار خانم قربانزاد تشکر و قدردانی می‌گردد.

پی‌نوشت‌ها:

۱- Mayocardium

۲- Ischemia

۳- Necrosis

۴- FFA: Free Fatty Acid

۵- PET: Positron Emission Tomography

۶- Cardiomyopathy

۷- Viability

۸- IPPA: Iodophenyl Penta Decanoic Acid

۹- Bolus

۱۰- Tracer

۱۱- Acquisition Time

References:

1. S.N. Reske "Metabolism of 15 ($P^{123}I$ iodophenyl-) pentadecanoic acid in heart muscle and non cardiac tissues," E.J. Nucl. Med **10**:228-234 (1985).

2. P.R. Franken "Abnormal free fatty acid uptake in subacute myocardial infarction after coronary thrombolysis," J. Nucl. Med **35** (**11**): 1758-1765 (1994).

3. P. Chouraqui "Comaprison of myocardial imaging with iodine-123- iodophenyl -9 methyl pentadecanoic acid and thallium 201chloride for assessment of patients with exercise induced myocardial ischemia," J. Nucl. Med **32** (**3**): 447-452 (March 1991).

4. I. Matsunari "Kinetics of ^{123}I-BMIPP in patients with prior myocardial infarction: Assessment with dynamic rest and stress images compared with stress thallium 201 SPECT," J. Nucl. Med **35** (**8**): 1279-1285 (August 1994).

5. J. Kropp "Single photon emission tomography imaging of myocardial oxidative metabolism with 15-(p[^{123}I] iodophenyl) pentadecanoic acid and aorta-coronary bypass graft surgery," E.J. Nucl. Med **18**:467-474 (1991).

6. H.J. Machulla "Synthesis of radioiodinated phenyl fatty acids for studying myocardial metabolism," Journal of radiopharmaceutical Chemistry, **56(1**): 253-261 (1980).

7. W.S. Richter "Combined thallium -201 and dynamic iodine-123 iodophenyl pentadecanoic acid single–photon emission computed tomography in patients after acute myocardial infarction with effective reperfusion: Clin.Cardiol," **23 (12)**: 902-908 (Dec 2000).

8. H. Seki "Prediction of functional improvement of ischemic myocardium with (123I-BMIPP SPECT and 99mTc-tetrofosmin SPECT imaging: a study of patients with large acute myocardial infarction and receiving revascularization therapy," Cir. Journal, **69(3**): 311-9 (March 2005).

9. H.J. Machulla "Biochemical and synthesis of a radioiodinated phenylfatty acid for in vivo metabolic studies of the myocardium,"E.J. Nucl. Med. **5:**171-173 (1980).

10. K. Watanabe, "Myocardial sympathetic denervation, fatty acid metabolism, and left ventricular wall motion in vasospastic angina," J. Nucl. Med **43(11):**1476-81 (Nov 2002).