

# تهیه تین کلونید تکنسیوم - 99m برای نگاره برداری از کبد - طحال

دکتر رضا نجفی و مجتبی عبدالله پور

بخش رادیوایزوتوپ، مرکز تحقیقات هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران

## چکیده

با به کارگیری سولفورکلونید  $Tc-99m$  جهت تهیه اسکن کبد و طحال، بسیاری از مراکز تحقیقاتی و تولیدی کوشش نمودند تا انواع مختلفی از کلونیدها را ارائه دهند. این ماده، علاوه بر داشتن خصوصیت مطلوب کلونیدی، برخلاف سولفورکلونیدها، دارای کاربردی ساده است، و نیز در مقابل ناخالصی‌های شیمیایی مانند یون آلمینیم، مقارم می‌باشد. یکی از این نوع کلونیدها، تین کلونید است که در آن پرتکتات سدیم -  $Tc-99m$  بر اثر یون استانو، احیاء شده و مجموعاً کمپلکس غیر محلول  $Tc(OH)_4$ ,  $Sn(OH)_2$  را بوجود می‌آورد. در این حالت، با به کار بردن یک پایدارکننده کلونیدی مناسب، می‌توان ذرات کلونیدی که دارای قطر مطلوب برای جذب در کبد و طحال می‌باشند، تهیه نمود. در این مطالعه، PVP به عنوان پایدارکننده کلونیدی انتخاب و با آزمایشهای متعدد، ویسکوزیته مناسب به دست آمد و با تغییر دادن مقادیر اجزاء کیت، ذرات کلونیدی مورد نظر تهیه گردید.

## مقدمه

در نوامبر سال ۱۹۶۳، دکتر Paul V. Harper از بیمارستان Argonne Cancer Research واقع در شهر شیکاگو، نامه‌ای خطاب به دکتر Powel Richards در Brook Haven National Laboratory (در نیویورک) نوشت، که خلاصه ترجمه بخشی از متن آن بشرح زیر است:

«... به پیوست، اسکن‌های مورد نظر ارسال می‌شود. کلیه آزمایشهای کلینیکی و اسکن‌های مربوط به سولفورکلونید -  $Tc-99m$  مطلوب بوده‌اند...»

به این ترتیب، تهیه سولفورکلونید تکنسیوم -  $99m$  برای اولین بار در تاریخ فوق توسط Richards تحقق یافت. متعاقباً، آزمایشهای کلینیکی انجام گردید و نتایج حاصله توسط دکتر Harper تأیید شد. با این حرکت، قدم دیگری در استفاده صحیح از عنصر ایده آل تکنسیوم -  $99m$  با بهره‌گیری از خصوصیات کلونیدها در پزشکی برداشته شد.

در سالهای اخیر، روشهای مختلفی برای تهیه پرتو داروی کلونیدی تکنسیوم -  $99m$  مورد استفاده واقع شده که هرکدام دارای مزایا و مضرات خاص خود می‌باشد. ذیلاً به چند کلونید مهم اشاره می‌شود.

سولفورکلونید  $Tc-99m$  که از دو طریق به دست می‌آید،

یکی به روش عبور دادن گاز  $SH_2$  از محلول پرتکتات سدیم  $Tc-99m$  تحت شرایط خاص است. کلونید حاصل به خاطر ریز بودن ذرات آن، بیشتر در مغز استخوان جذب می‌شود. روش دیگر، اثر اسید کلریدریک بر تیسولفات سدیم است، که باعث آزاد شدن گوگرد می‌شود، و معلق ساختن آن توسط یک پایدارکننده کلونیدی مثل ژلاتین. کلونید حاصل برای تهیه اسکن کبد و طحال مناسب می‌باشد. با آن که کلونیدهای فوق از نظر تهیه اسکن سیستم رتیکولواندوتلیال به طور مطلوب عمل می‌کنند، لیکن تهیه آنها در محل مصرف تا حدودی پیچیده بوده و به روش ساده‌تری نیاز دارد.

میکرواگرگیت سرم آلومین -  $Tc-99m$  پرتو داروی کلونیدی مطلوب دیگری است که با دو قطر متفاوت ذرات تهیه می‌شود. یکی به قطر ۱ تا ۳ میکرون که مناسب برای کبد و طحال می‌باشد و دیگری به قطر ریزتری، بنام مینی میکرواگرگیت، که برای تهیه اسکن مغز استخوان به کار می‌رود. این پرتو داروی به صورت کیت عرضه می‌گردد و نحوه استفاده از آن مانند سایر کیت‌های معمولی تکنسیوم -  $99m$  آسان است، لاکن در موقع تولید، استریل کردن آن به خساطر خصوصیت ذره‌ای که دارد به روش صافی

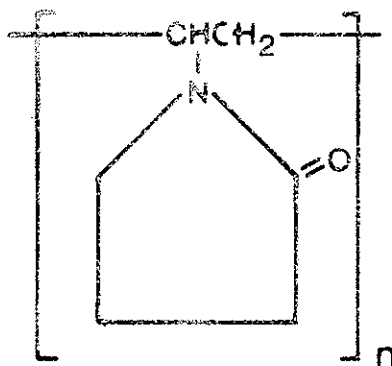
مختص سیستم فوق نبوده بلکه در سلولهای دیگر مانند سلولهای سرطانی، سلولهای فعال کبدی، فیبروبلاستها و سلولهای اپیتلیال نیز صورت می گیرد. از نظر تصویرگیری سلولهای کوبفر (Kupfer) موجود در سینه‌سهای کبدی و سلولهای سینه‌نید و رتی‌کولار واقع در طحال، مغز استخوان و غدد لنفاوی، نقش مهمی ایفا می کنند.

سیستم رتی‌کولاندوتلیال تا اندازه‌ای پیچیده است، به این دلیل که جذب بعضی از انواع کلونیدها در یک عضو آن بیشتر از عضوی دیگر صورت می گیرد و بالعکس.

عواملی که در عمل فاگوسیتوز دخالت دارند شامل اندازه قطر ذرات، خصوصیات سطحی، بار و تعداد ذرات تزریق شده می باشند.

به طور کلی، ذرات درشت‌تر، از خون زودتر خارج می شوند و در کبد و طحال به مقدار بیشتری جمع می شوند. ذرات ریزتر، دیرتر از خون خارج شده و عمدتاً در مغز استخوان تجمع می یابند. ذراتی که قطر آنها بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر می باشد بیشتر جذب کبد و طحال می شوند. ذراتی که قطر آنها کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد بیشتر جذب مغز استخوان و ذراتی که دارای قطر ۱۰ تا ۱۵ نانومتر می باشند عمدتاً جذب غدد لنفاوی می شوند.

به خاطر جلوگیری از چسبندگی بین کلونیدها، از مواد محافظت کننده کلونیدی مانند ژلاتین، دکستران، پروتئین و غیره استفاده می شود. مواد فوقی که فعال کننده سطحی هستند امکان دارد تغییراتی در خصوصیات سطحی یک کلونید بوجود آورده و حتی باعث از بین رفتن خاصیت فاگوسیتوز کلونید شوند.



شکل ۱ - 1-Vinyl Polymer-2-Pyrrolidone

میکروبیولوژی امکان پذیر نیست.

استانو فیتیت - Tc-99m (Tc-99m-Sn-Phytate) ، با منشاء اسید فیتیت (مشتق فسفات هندی) می باشد که ملح کلسیم آن در آب غیر محلول و به صورت کلونید در می آید. از آنجاکه خون دارای مقداری کلسیم است، ملح سدیم این ماده موقع ورود به داخل خون به کلسیم فیتیت غیر محلول تبدیل گشته و به شکل کلونید در سیستم های رتی‌کولاندوتلیال تجمع می نماید. این دارو به صورت کیت معمولی تهیه می شود و مشکلی در مصرف آن نیست، لاکن به خاطر وجود فسفات، مقداری از آن جذب استخوان گشته و در موقع تهیه اسکن مغز استخوان، تداخل ایجاد می کند. سولفوانتی موان - Tc-99m که به خاطر ریز بودن ذرات آن بیشتر برای تهیه اسکن از غدد لنفاوی به کار می رود.

مپاده اصلی کیت تین کلونید، یون استانو است که می تواند به صورت نمک کلراید یا فلوراید باشد. موقعی که محلول تکنسیوم - 99m به فرم پرتکتات به ماده مذکور اضافه شود مقداری از یون استانو باعث احیاء کردن پرتکتات گشته و مابقی هیدرولیز شده و مجموعه محلول بوده و ته نشین می شود. حال برای مطلق ساختن و به حالت کلونیدی در آوردن ذرات حاصلی، می بایستی از مواد معلق کننده که بعضاً مواد فعال کننده سطحی (surfactant) هستند استفاده نمود. تاکنون مواد متعددی از قبیل Tween ، Poloxamer ، PVP و ژلاتین مورد استفاده واقع شده اند. PVP که یک پلیمر سنتتیک می باشد دارای یک گروه خطی به فرمول بسته  $(C_6H_5NO)_n$  است (شکل ۱).

میزان پلیمر شدن (تغییرات در  $n$ ) ترکیب فوق باعث بوجود آمدن پلی مرها با وزن مولکولی و ویسکوزیته مختلف می گردد. ویسکوزیته این مواد در محلول آبی نسبت به خود آب سنجیده می شود و به عنوان K-value معروف است که از اعداد ۱۰ تا ۹۵ را شامل می شود.

سیستم رتی‌کولاندوتلیال که به طور نسبتاً وسیعی در بدن پخش شده اند عمدتاً شامل دو بخش می باشند، ماکروفاژهای ثابت و ماکروفاژهای متحرک. این سیستم مسئول فعالیت ریزه خواری (phagocytosis) در بدن است. البته باید به این نکته توجه نمود که عمل فاگوسیتوز در بدن

## روش کار

مقدار مشخصی از استانوفلوراید (۰/۲ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر آب) و نیز سدیم فلوراید (۰/۵ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر) در آب مقطر دوبار تقطیر شده، حل گردیده و به منظور استریل شدن از فیلتر میکروبیولوژی عبور داده شد. سپس، مقادیر مختلفی از دو نوع PVP-40t و PVP-360 توزین و در آب مقطر حل گردید (غلظتهای مورد نظر در جدول شماره ۱ منعکس است). محلول‌های فوق درهم مخلوط و برحسب تعداد کیت‌های مورد آزمایش و با توجه به غلظتهای ذکر شده به حجم رسانده شدند. مخلوط سپس به مقادیر ۱ میلی‌لیتری در هر ویال تقسیم و در داخل فریزدرایر (Freeze drier) به مدت ۴۸ ساعت و در حرارت ۱۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد تا تمام آب آن خارج گردد. کلیه کارهای فوق در شرایط استریل صورت پذیرفت. کیت‌های مزبور برخلاف سولفورکلوئید ولی مانند اکثر کیت‌های معمولی فقط با افزودن ۳ تا ۵ میلی‌متر پرتکتانت سدیم - Tc-99m (۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌کوری) نشاندار گردید.

به این ترتیب، بازدهی نشاندار شدن محلول کلئوئید پس از تکان دادن آن به مدت نیم دقیقه و قرار دادن در محیط آزمایشگاه به مدت ۱۵ دقیقه به بیش از ۹۸ درصد رسید. برای تعیین خلوص رادیو شیمیایی و بازدهی نشاندار شدن، از کاغذ کروماتوگرافی و حلال متانول استن (۵۰-۵۰) استفاده شد. در این آزمایش، تین کلئوئید نشاندار شده در مبداء باقی ماند و پرتکتانت حرکت نموده و به RF حدود ۰/۷۵ منتقل گردید.

برای بررسی توزیع کلئوئید نشاندار شده، حدود ۱۰۰ میکروکوری از آن در حجم حدود ۰/۲ میلی‌لیتر به ورید دم موش کوچک آزمایشگاهی (Mouse) تزریق و بعد از ۱۵ دقیقه بدن حیوان تشریح و اعضای کبد، طحال، ریه و خون از آن خارج گردید. سپس، مقدار پرتوزائی اندامهای مذکور توسط آشکار ساز اطاقک یونساز شمارش و درصد توزیع اکتیویته محاسبه شد. در موقع تزریق دقت گردید تا ذرات کلئوئید (با تکان دادن ویال) ته نشین نشده و محلول یکنواخت باشد.

بار سطح کلئوئید بر روی عمل فاگوسیتوز نیز تأثیر می‌گذارد. اگر کلئوئید و سلول فاگوسیت دارای بار مثبت باشند، مسلماً در این حالت می‌بایست انرژی الکترواستاتیک به مقدار کافی جهت غلبه بر این نیروی دافعه تامین شود. ثابت شده است کلئوئیدهایی که دارای بار منفی هستند بیشتر جذب کبد می‌شوند، درحالی‌که کلئوئیدهای دارای بار مثبت ابتدا در ریه جذب و سپس در طحال تجمع می‌کنند.

به طور کلی، عمل فاگوسیتوز در سه مرحله صورت می‌گیرد: در مرحله اول، به هنگام ورود به خون، ذرات توسط پروتئینی بنام Opsonin پوشانیده می‌شوند. این عمل باعث می‌شود که سلولهای فاگوسیتوز این ذرات را شناخته و آنها را به سمت خود جذب کنند. اپسن‌ها دو دسته هستند، یک دسته مربوط به ایمینوگلوبولین (IgG) و دسته دیگر مربوط به فاکتور کمپلمنت (complement) می‌باشند که هر دو در جریان خون انسان سالم به مقدار کافی یافت می‌شود. در بعضی از بیماریها و نیز موقعی که مقدار قابل توجهی از این ذرات به بیمار تزریق شود، بازدهی جذب در اعضا رتیکولاندوتلیال کاسته می‌شود و چنین تصور می‌گردد که در این حالت اپسن‌ها قادر به پوشش کامل ذرات نمی‌باشند. جمع شدن ذرات: رتیکولاندوتلیال بستگی به میزان جریان خون به اعضا آن دارد. اگر به عللی میزان جریان خون کاهش یابد، مقدار جذب در اعضا پائین می‌آید. بازدهی جذب در غدد لنفاوی نیز بستگی به جریان لنفاوی دارد. بعد از شناسائی ذرات توسط فاگوسیتها، این ذرات به سوی سلول جلب شده و به سطح آن متصل می‌گردند. در اینجا نیز اپسن‌ها نقش موثری بازی می‌کنند. آن دسته از ذرات که با اپسن‌های نوع IgG پوشانیده شده‌اند توسط پذیرنده‌هایی بنام FC جذب می‌گردند که در این حالت کربوکسیلیک مولکول IgG به رسپتور متصل می‌گردد. رسپتور دیگری بنام C3 موجود است که با فاکتور موجود در انتهای کمپلمنت اتصال حاصل می‌کند. آخرین مرحله عمل فاگوسیتوز، بلعیدن ذرات توسط سلولها می‌باشد که این عمل همراه با صرف انرژی است و از قسمت سطحی به داخل سلول کشیده می‌شود.

## بحث و نتایج

کمپلکس و نشاندار شدن ماده مورد نظر، PH محیط است. یکی میلی لیتر محلول تین کلونید که دارای ۰/۲ میلی گرم استانوفلوراید، ۱/۲ میلی گرم PVP-40t و ۰/۳ تا ۰/۵ میلی گرم PVP-360 است دارای PH ۳ الی ۳/۲ می باشد. با افزایش دادن PH به وسیله محلول سود رقیق، ملاحظه گردید که در PH بالاتر از ۳/۸، محلول کدر می شود. با افزودن یک میلی گرم سدیم فلوراید، PH محلول بدون آن که کدر شود به ۶ رسید لیکن، اکتیویته در خون افزایش و در کبد موش کاهش نسبی یافت. از طرفی با کاهش دادن مقدار سدیم فلوراید به ۰/۵ میلی گرم، PH محلول به ۵/۵ رسید. در این حال، جذب غیر عادی در خون وجود نداشت، اکتیویته در کبد نیز افت نکرد. بطور کلی، PH در حد ۵ تا ۶ برای محلول تزریقی مناسب است و بنابراین مقدار ۰/۵ سدیم فلوراید در فرمولاسیون کیت در نظر گرفته شد. با افزودن Tc-99m تا مقدار ۱۰۰ میلی کوری به کیت مذکور تغییری در مقدار کلونید نشاندار شده حاصل نشد و خلوص رادیو شیمیائی همچنان بیش از ۹۸ درصد باقی ماند. همچنین، تأثیر زمان تا ۶ ساعت بعد از نشاندار شدن مورد بررسی واقع شد و در عرض این مدت پرتکتات به طور قابل ملاحظه‌ای آزاد نشد. جدول شماره ۲ مقدار درصد اکتیویته جذب شده در کبد را در ساعتهای بعد از نشاندار شدن کیت نشان می دهد. این کیت با کیت تین کلونید آمزشام که در آن ماده‌ای بنام Ploamer به عنوان پایدار کننده کلونیدی به کار رفته است مقایسه گردید.

همان طور که ذکر شد قطر ذرات کلونیدی در نحوه جذب در ارگانهای رتیکولواندوتلیال نقش تعیین کننده‌ای دارند. با قرار دادن نوع ماده پایدار کننده کلونیدی و تنظیم غلظت آن می توان ذرات کلونیدی که دارای اندازه مطلوب باشد به دست آورد. جدول شماره ۱ تاثیر غلظتهای متفاوت PVP-40t و PVP-360 را در ایجاد ذراتی که دارای قطرهای مختلف هستند نشان می دهد. چنانچه ویسکوزیته محلول تین کلونید کاهش یابد ذرات ریز، بهم متصل شده و به صورت ذرات درشتی در می آیند. ذرات درشت در اولین شبکه مویرگی بعد از بطن راست یعنی شبکه مویرگهای ریوی قرار می گیرند و نمی توانند خارج گردند. لذا، درصد جذب ریوی بالا می رود (جدول ۱). حال اگر با تغییر دادن نسبت PVP-40t و PVP-360 ویسکوزیته محلول را افزایش دهیم، قطر ذرات به حد مطلوب می رسد به طوری که درصد جذب کبدی به حداکثر خود افزایش می یابد. اما، با ادامه تغییرات، ذرات ریزتری ایجاد می شوند. این ذرات در کبد کمتر جذب شده و دیرتر از خون دفع می شوند (در مغز استخوان بیشتر جذب می شوند).

در آزمایشهای دیگر، PVP-40t را در مقدار ۱/۳ میلی گرم ثابت نگهداشته ولی مقدار PVP-360 را به میزان ۰/۱، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ میلی گرم تغییر دادیم. ملاحظه شد که PVP-360 در مقدار ۰/۵ میلی گرم، در مقایسه با ۰/۳ میلی گرم، بیشتر در کبد جذب شد. یکی دیگر از عوامل موثر در تشکیل

جدول شماره ۱- تاثیر غلظتهای مختلف PVP-40t و PVP-360 بر نحوه توزیع ذرات در اعضاء بدن. این آزمایشها بر روی محلول استانوفلوراید با غلظت ۰/۲ میلی گرم در میلی لیتر انجام شد. تعداد موشهای آزمایشگاهی استفاده شده در هر غلظت ۳ عدد بود.

PVP-40t (میلی گرم)	PVP-360 (میلی گرم)	جذب کبدی (درصد)	جذب ریوی (درصد)	جذب خونی (درصد)	جذب طحال (درصد)
۰/۹	۰/۶	۶۸ ± ۱/۵	۱۶ ± ۱/۲	۳ ± ۰/۷	۱/۵ ± ۰/۷
۱	۰/۵	۶۸ ± ۲	۱۶ ± ۰/۸	۳ ± ۰/۶	۱/۷ ± ۰/۶
۱/۱	۰/۴	۷۵ ± ۲/۶	۱۱ ± ۰/۹	۴ ± ۰/۲	۲ ± ۰/۶
۱/۲	۰/۳	۹۰ ± ۲/۲	۱/۵ ± ۰/۲	۴ ± ۰/۱	۲/۴ ± ۰/۴
۱/۳	۰/۲	۸۱ ± ۱/۵	۳ ± ۰/۱۸	۸ ± ۱/۵	۲/۱ ± ۱/۵
۱/۴	۰/۱	۸۰ ± ۱	۳ ± ?	۱۱ ± ۲	۱/۹ ± ۰/۴

جدول شماره ۲. مقایسه مقدار درصد جذب کبدی تین کلونید تهیه شده در بخش رادیو ایزوتوپ با تین کلونید آمرشام در موش آزمایشگاهی، در ساعت‌های بعد از نشاندار شدن کیت‌ها با  $Tc-99m$ .

انواع کیت‌ها	ساعت بعد از نشاندار شدن					
	۱	۲	۳	۴	۵	۶
تین کلونید تهیه شده در بخش رادیو ایزوتوپ.	$89 \pm 1/5$	$90 \pm 2/6$	$92 \pm 1/2$	$91 \pm 1/7$	$91 \pm 1/3$	$90 \pm 0/9$
تین کلونید تهیه شده در آمرشام	$87 \pm 1$	$88 \pm 0/9$	$89 \pm 1/7$	$87 \pm 1$	$88 \pm 1/1$	$87 \pm 1$

بعد از بررسی ویسکوزیته‌های مختلف PVP و نیز با توجه به مقادیر مختلف اجزاء مورد نیاز برای تهیه کیت کلونیدی کبد - طحال؛ فرمول زیر مناسب تشخیص داده شد.

استانوفلوراید،	به مقدار	۰/۲ میلی‌گرم
سدیم فلوراید،	به مقدار	۰/۵ میلی‌گرم
PVP-40t،	به مقدار	۱/۲ میلی‌گرم
PVP-360،	به مقدار	۰/۵ میلی‌گرم

یکی از مزایای تین کلونید نسبت به سولفورکلونید این است که از تشکیل ذرات درشت‌تر کلونیدی که به دلیل وجود ناخالصی احتمالی یون آلومینیم صورت می‌پذیرد، جلوگیری می‌کند.

جدول شماره ۳ نشان می‌دهد که افزایش مقدار یون آلومینیم تا ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (حداکثر مجاز یون آلومینیم) تغییر عمده‌ای در نسبت میزان جذب ذرات کلونیدی در کبد و زیه‌ها بوجود نمی‌آورد.

## References

1. Akhtar M, et al. Technetium-99m-Tin Colloid: A simple method for the preparation and evaluation. J Radioanal Nucl Chem letters. 146(6): 415-420; 1990.
2. Meryn W. Radiopharmaceuticals for imaging the reticuloendothelial system. Radiopharmaceuticals progress and Clinical perspectives. Vol 11. Alan R. Fritzberg(ed). CRC Press. 1986.
3. The Pharmacopeia of the United States of America. Twenty-first Revision. Bethesda. The United States Pharmacopeial convention, Inc. 863; 1985.

جدول شماره ۳. درصد جذب کبدی و ریوی در مدت ۳۰ دقیقه بعد از تزریق تین کلونید  $Tc-99m$  در مجاورت مقادیر مختلف یون آلومینیم.

مقدار درصد جذب ریوی	مقدار درصد جذب کبدی	مقدار یون آلومینیم افزوده شده به محلول $Tc-99m$ (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
$1 \pm 0/1$	$85/6 \pm 1$	۵
$2 \pm 0/9$	$87 \pm 2/3$	۱۰
$1/5 \pm 0/7$	$90/2 \pm 1/7$	۱۵
$0/9 \pm 0/15$	$89 \pm 1/9$	۲۰