تهیه تین‌کلوئید تکنسیوم ـ 99m برای نگاره‌برداری از کبد ـ طحال

دکتر رضا نجفی و مجتبی عبدالله پور

بخش رادیوایزوتوپ، مرکز تحقیقات هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران

چکیده

با به کارگیری سولفورکلوئید ـ Tc-99m جهت تهیه اسکن کبد و طحال، بسیاری از مراکز تحقیقاتی و تولیدی کوشش نمودند تا انواع مختلفی از کلوئیدها را ارائه دهند. این ماده، علاوه بر داشتن خصوصیت مطلوب کلوئیدی، برخلاف سولفورکلوئیدها، دارای کاربردی ساده است، و نیز در مقابل ناخالصی‌های شیمیائی مانند یون آلومینیم، مقاوم می‌باشد. یکی از این نوع کلوئیدها، تین‌کلوئید است که در آن پرتکنتات سدیم ـ Tc-99m بر اثر یون استانو، احیاء شده و مجموعاً کمپلکس غیر محلول $Sn(OH)_2$، $Tc(OH)_4$ را بوجود می‌آورد. در این حالت، با به کار بردن یک پایدار کنندهٔ کلوئیدی مناسب، می‌توان ذرات کلوئیدی که دارای قطر مطلوب برای جذب درکبد و طحال می‌باشند، تهیه نمود. در این مطالعه، PVP به عنوان پایدارکنندهٔ کلوئیدی انتخاب و با آزمایشهای متعدد، ویسکوزیته مناسب به دست آمد و با تغییر دادن مقادیر اجزاء کیت، ذرات کلوئیدی 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 ترجمهٔ بخشی از متن آن بشرح زیر است:

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

به این ترتیب، تهیه سولفورکلوئیدتکنسیوم ـ 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 ایده‌آل تکنسیوم ـ 99m با بهره‌گیری از خصوصیات کلوئیدها در پزشکی برداشته شد.

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

سولفورکلوئید Tc-99m که از دو طریق به دست می‌آید، یکی به روش عبور دادن گاز SH_2 از محلول پرتکنتات سدیم ـ Tc-99m تحت شرایط خاص است. کلوئید حاصل به خاطر ریز بودن ذرات آن، بیشتر در مغز استخوان جذب می‌شود. روش دیگر، اثر اسید کلریدریک بر تیوسولفات سدیم است، که باعث آزاد شدن گوگرد می‌شود، و معلق ساختن آن توسط یک پایدار کنندهٔ کلوئیدی مثل ژلاتین. کلوئید حاصل برای تهیه اسکن کبد و طحال مناسب می‌باشد. با آن که کلوئیدهای 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.

میکرو اگرگیت سرم آلبومین ـ Tc-99m پرتو داروی کلوئیدی 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 دارو به صورت کیت عرضه می‌گردد و نحوه استفاده از آن مانند سایر کیت‌های معمولی تکنسیوم ـ 99m، آسان است، لاکن در موقع تولید، استریل کردن آن به خاطر خصوصیت ذره‌ای که دارد به روش صافی

میکروبیولوژی امکان پذیر نیست.

استانوفیتیت ـ Tc-99m (Tc-99m-Sn-Phytate) ، با منشاء اسید فیتیت (مشتق فسفاته قندی) می‌باشد که ملح کلسیم آن در آب غیر محلول و به صورت کلوئید در می‌آید. 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 کلوئید در سیستم‌های رتیکولواندوتلیال تجمع می‌نماید. این دارو به صورت کیت معمولی تهیه می‌شود 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 می‌کند.

سولفوآنتی‌موان ـ Tc-99m که به خاطر ریز بودن ذرات آن بیشتر برای تهیه اسکن از غدد لنفاوی به کار می‌رود.

مبادهٔ اصلی کیت تین‌کلوئید، یون استانو است که می‌تواند به صورت نمک کلراید یا فلوراید باشد. موقعی که محلول تکنسیوم ـ 99m به فرم پرتکنتات به مادهٔ مذکور اضافه شود مقداری از یون استانو باعث احیاء کردن پرتکنتات گشته و مابقی هیدرولیز شده و مجموعهٔ $Tc(OH)_4Sn(OH)_2$ را بوجود می‌آورد. این مجموعه غیر محلول بوده و ته نشین می‌شود. حال برای معلق ساختن و به حالت کلوئیدی در آوردن ذرات حاصل، می‌بایستی از مواد معلق کننده که بعضاً مواد فعال کنندهٔ سطحی (surfactant) هستند استفاده نمود. تاکنون مواد متعددی از قبیل Poloxamer ، Tween ، PVP و ژلاتین مورد استفاده واقع شده‌اند. PVP که یک پلیمرسنتتیک می‌باشد دارای یک گروه خطی به فرمول بسته $(C_6H_9NO)_n$ است (شکل ۱).

میزان پلیمر شدن (تغییرات در n) ترکیب فوق باعث بوجود آمدن پلی‌مرها با وزن مولکولی و ویسکوزیتهٔ مختلف می‌گردد. ویسکوزیتهٔ این مواد در محلول آبی نسبت به خود آب سنجیده می‌شود و به عنوان K-value معروف است که از اعداد ۱۰ تا ۹۵ را شامل می‌شود.

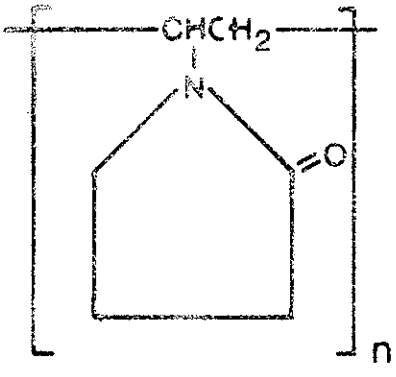
سیستم رتیکولواندوتلیال که به طور نسبتاً وسیعی در بدن پخش شده‌اند عمدتاً شامل دو بخش می‌باشند، ماکروفاژهای ثابت و ماکروفاژهای متحرک. این سیستم مسئول فعالیت ریزه‌خواری (phagocytosis) در بدن است. البته باید به این نکته توجه نمود که عمل فاگوسیتوز در بدن مختص سیستم فوق نبوده بلکه در سلولهای دیگر مانند سلولهای سرطانی، سلولهای فعال کبدی، فیبروبلاستها و سلولهای اپیتلیال نیز صورت می‌گیرد. از نظر تصویرگیری سلولهای کوپفر (Kupfer) موجود در سینوسهای کبدی و سلولهای سینوئید و رتیکولار واقع در طحال، مغز استخوان و غدد لنفاوی، نقش مهمی ایفا می‌کنند.

سیستم رتیکولواندوتلیال تا اندازه‌ای پیچیده است، به این دلیل که جذب بعضی از انواع کلوئیدها در یک عضو آن بیشتر از عضوی دیگر صورت می‌گیرد و بالعکس.

عواملی که در عمل فاگوسیتوز دخالت دارند شامل اندازهٔ قطر ذرات، خصوصیات سطحی، بار و تعداد ذرات تزریق شده می‌باشند.

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

به خاطر جلوگیری از چسبندگی بین کلوئیدها، از مواد محافظت کنندهٔ کلوئیدی مانند ژلاتین، دکستران، پروتئین و غیره استفاده می‌شود. مواد فوق که فعال کنندهٔ سطحی هستند امکان دارد تغییراتی در خصوصیات سطحی یک کلوئید بوجود آورده و حتی باعث از بین رفتن خاصیت فاگوسیتوز کلوئید شوند.



شکل ۱ ـ 1- Vinyl Polymer-2-Pyrrolidone

بار سطح کلوئید بر روی عمل فاگوسیتوز نیزتأثیر می‌گذارد. اگر کلوئید و سلول فاگوسیت دارای بار مثبت باشند، مسلماً در این حالت می‌بایست انرژی الکترواستاتیک به مقدارکافی جهت غلبه بر این نیروی دافعه تامین شود. ثابت شده است کلوئیدهائی که دارای بار منفی هستند بیشتر جذب کبد می‌شوند، درحالی که کلوئیدهای 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 Opsons 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 دستهٔ دیگر مربوط به فاکتور کمپلمنت (complement) می‌باشند که هر دو در جریان خون انسان سالم به مقدارکافی یافت می‌شود. در بعضی از بیماریها و نیز موقعی که مقدار قابل توجهی از این ذرات به بیمار تزریق شود، باز دهی جذب در اعضا رتیکولواندوتلیال کاسته می‌شود و چنین تصور می‌گردد که در این حالت اپسن‌ها قادر به پوشش کامل ذرات نمی‌باشند. جمع شدن ذرات در رتیکولواندوتلیال بستگی به میزان جریان خون به اعضاء آن دارد. اگر به عللی میزان جریان خون کاهش یابد، مقدار جذب در اعضاء 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 پذیرنده‌هائی 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.

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-360 و PVP-40t 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 هرویال 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 پرتکنتات سدیم ـ Tc-99m (۱۰ تا ۱۰۰ میلی کوری) نشاندار گردید.

به این ترتیب، بازدهی نشاندار شدن محلول کلوئید 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 شیمیائی و بازدهی نشاندار شدن، از کاغذ کروماتوگرافی و حلال متانول استن (۵۰-۵۰) استفاده شد. در این آزمایش، تین‌کلوئید نشاندار شده در مبداء باقی ماند و پرتکنتات حرکت نموده و به RF حدود ۰/۷۵ منتقل گردید.

برای بررسی توزیع کلوئید 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 کلوئید (با تکان دادن ویال) ته نشین نشده و محلول یکنواخت باشد.

بحث و نتایج

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

در آزمایشهای دیگر، PVP-40t را در مقدار ۱/۳ میلی‌گرم ثابت نگهداشته ولی مقدار PVP-360 را به میزان ۰/۱، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ میلی‌گرم تغییر دادیم. ملاحظه شد که PVP-360 در مقدار ۰/۵ میلی‌گرم، در مقایسه با ۰/۳ میلی‌گرم، بیشتر در کبد جذب شد. یکی دیگر از عوامل موثر در تشکیل کمپلکس و نشاندار شدن ماده مورد نظر، PH محیط است. یکی میلی‌لیتر محلول تین‌کلوئید که دارای ۰/۲ میلی‌گرم استانوفلورایـد، ۱/۲ میلی‌گرم PVP-40t و ۰/۳ تا ۰/۵ میلی‌گرم PVP-360 است دارای PH ۳ الی ۳/۲ می‌باشد. با افزایش دادن PH به وسیله محلول سود رقیق، ملاحظه گردید که در PH بالاتر از ۳/۸، محلول کدر می‌شود. با افزودن یک میلی‌گرم 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 میلی‌گرم، 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 کلوئید 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 پرتکنتات 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 می‌دهد. این کیت با کیت تین‌کلوئید آمرشام که در آن ماده‌ای بنام Ploamer به عنوان پایدار کننده کلوئیدی به کار رفته است مقایسه گردید.

جدول شماره ۱ـ تأثیر غلظتهای مختلف PVP-360 و PVP-40t بر نحوه توزیع ذرات در اعضاء بدن. این آزمایشها برروی محلول استانوفلوراید با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر انجام شد. تعداد موشهای آزمایشگاهی استفاده شده در هر غلظت ۳ عدد بود.

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

جدول شماره ۲ـ مقایسه مقدار درصد جذب کبدی تین‌کلوئید تهیه شده در بخش رادیو ایزوتوپ با تین‌کلوئید 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
تین‌کلوئیدتهیه شده در بخش رادیو ایزوتوپ.	۸۹ ± ۱/۵	۹۰ ± ۲/۶	۹۲ ± ۱/۲	۹۱ ± ۱/۷	۹۱ ± ۱/۳	۹۰ ± ۰/۹
تین‌کلوئید تهیه شده در امرشام	۸۷ ± ۱	۸۸ ± ۰/۹	۸۹ ± ۱/۷	۸۷ ± ۱	۸۸ ± ۱/۱	۸۷ ± ۱

یکی از مزایای تین‌کلوئید نسبت به سولفورکلوئید این است که از تشکیل ذرات درشت‌تر کلوئیدی 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 کلوئیدی در کبد و ریه‌ها بوجود نمی‌آورد.

جدول شماره ۳ـ درصد جذب کبدی و ریوی در مدت ۳۰ دقیقه بعد از تزریق تین‌کلوئید ـ 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/میلی‌لیتر)
۱ ± ۰/۱	۸۵/۶ ± ۱	۵
۲ ± ۰/۹	۸۷ ± ۲/۳	۱۰
۱/۵ ± ۰/۷	۹۰/۲ ± ۱/۷	۱۵
۰/۹ ± ۰/۱۵	۸۹ ± ۱/۹	۲۰

بعد از بررسی ویسکوزیته‌های مختلف PVP و نیز با توجه به مقادیر مختلف اجزاء مورد نیاز برای تهیه کیت کلوئیدی کبد ـ 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

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. Merryn 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.