

سنترز و ارزیابی نانوذرات اکسید آهن پوشانده شده با کربوکسی متیل کیتوزان و رادیونشاندار شده با ^{68}Ga جهت افزایش جذب توموری

روانشاد، احمد* - آزابخت، بختیار

گروه مهندسی هسته‌ای، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، ۳۶۱۱۱-۶۹۱۵۱، بروجرد - ایران

چکیده:

در این پژوهش اثر انتقال هدفمند نانوذرات اکسید آهن پوشانده شده با کربوکسی متیل کیتوزان و رادیونشاندار شده با ^{68}Ga بواسطه اثر نفوذپذیری تقویت شده و ابقاء به سلولهای 4T1 بررسی شد. نانوذرات مغناطیسی آهن به شیوه هم‌رسوبی شامل ترکیب نمودن یونهای Fe^{+2} و Fe^{+3} آهن به نسبت مولی ۱ به ۲ سنتز و سطح آنها به وسیله پلیمر کربوکسی متیل کیتوزان پوشش داده شدند، سپس به منظور رادیونشاندارسازی به روش غیرمستقیم از شلاتور تحت عنوان DOTA-NHS استفاده شد. در ادامه نانوذرات با رادیویزوتوپ ^{68}Ga سه مرتبه نشاندار و با بازده نشاندارسازی با روش کروماتوگرافی RTLC (بیش از ۹۷٪) تعیین شد. در نهایت با مقایسه میزان جذب توموری طبق فرمول $\text{ID/g}\%$ از 0.34 ± 0.50 ، 0.42 ± 0.45 و 0.34 ± 0.50 برای ^{68}Ga کلراید به 1.48 ± 0.55 ، 2.24 ± 0.4 و 1.1 ± 1.1 برای حالت ترکیب نانوذرات رادیونشاندار شده با ^{68}Ga در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق به موش‌های توموری افزایش یافت، که این نتایج حاکی از جذب مناسب نانورادیوداروی حاصل در منطقه توموری بر اثر خواص نانویی مانند اثر افزایش نفوذ و ابقای نانوذرات در تومور است.

کلیدواژه‌ها: نانوذرات اکسید آهن، خاصیت نفوذپذیری و ابقاء، ^{68}Ga ، شلاتور DOTA-NHS

preparation and evaluation iron oxide nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan and radiolabeled with ^{68}Ga to increase absorbed dose of tumor

Ravanshad, ahmad*; Azadbakht, bakhtiar

Engineering-Department, Nuclear Engineering group on Medical Radiation,
Azad University Borujerd Branch, 69151-36111, Borujerd, Iran.

Abstract:

In this study, the effect of targeted transfer of iron oxide nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan and radiolabeled with ^{68}Ga was enhanced by the effect of enhanced permeability and retention in 4T1 cells. Magnetic iron nanoparticles were synthesized by combining Fe^{+2} and Fe^{+3} ions in a molar ratio of 1:2 and their surface was coated with carboxymethyl chitosan polymer, then a DOTA-NHS chelator was used indirectly for radioisotope and labeled with RTLC chromatography (more than 97%). Finally by comparing the tumor adsorption rate according to the $\text{ID/g}\%$ formula from 0.34 ± 0.50 , 0.42 ± 0.45 and 0.34 ± 0.50 for ^{68}Ga chloride to 1.48 ± 0.55 , 2.24 ± 0.4 and 1.1 ± 1.1 for the combination of ^{68}Ga labeled nanoparticles it increased at 30, 60 and 120 minutes after injection into tumor mice, which indicates the proper uptake of nanoradiodrugs in the tumor area due to nano-properties such as increased penetration and retention of nanoparticles in the tumor.

Keywords: Iron Oxide Nanoparticles, Enhanced Permeability and Retention (EPR) effect, ^{68}Ga Radiopharmaceutical, DOTA-NHS chelator.

Email: ahmad.ra1994@gmail.com

۱. مقدمه

سرطان بیماری است که براساس عوامل محیطی و اختلال‌های ژنتیکی ایجاد و با تقسیم نامنظم و بی‌رویه‌ی سلول‌ها (نئوپلازی) باعث مختل شدن اعمال حیاتی اندام‌ها می‌شود و در حال حاضر یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در جهان است. [۱]

علم نانو تکنولوژی از طریق به کارگیری نانوذرات و توسعه روش‌های دارورسانی هدفمند به تومور به کمک تشخیص و درمان بیماری‌ها آمده‌است. نانوذرات، پتانسیل بالایی در زمینه تشخیص و درمان بیماری‌ها به ویژه سرطان دارند. استفاده از نانوفناوری این امکان را فراهم کرده است که با حداقل آسیب به بافت‌ها و اندام‌های سالم بتوان تومورهای سرطانی را از بین برد. نانو ذرات اکسید آهن کاربرد زیست پزشکی گسترده‌ای نسبت به سایر نانوذرات مغناطیسی دارند که در پزشکی بالینی بعنوان حامل در دارورسانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. آزمایش‌های که در طول چندسال بر روی نانوذرات اکسید آهن صورت گرفته است نشان می‌دهد که این ذرات هیچگونه اثر سمی فوری یا بلند مدت در شرایط درون تن ندارند، اما حضور برخی نانوذرات همراه با نانوحامل‌ها باعث تقویت اثر و عملکرد آنها بر روی سلول‌های سرطانی می‌شود. به این طریق که این نانوذرات بوسیله مکانیسم‌های مختلفی همچون افزایش استرس اکسیداتیو و تجمع مناسب دارو در سلول باعث تقویت تاثیر نانوحامل‌ها می‌شوند. زیست سازگار بودن با شرایط محیط بدن، پایداری و تهیه‌ی آسان، موجب توسعه‌ی استفاده‌ی آنها شده‌است. مهمترین مزیت نانوساختار به عنوان حامل دارو و کوچکی اندازه آنهاست. این موضوع عبور آنان را از غشای سلول‌های زیستی امکان پذیر و آسان می‌سازد. همچنین به منظور زیست سازگار نمودن نانوحامل‌های دارویی و در امان ماندن آنها از سیستم ایمنی بدن و برای استفاده هرچه مطلوبتر معمولا سطح آنها را با پلیمرها یا مولکول‌های شناخته شده زیستی می‌پوشانند. این مولکول‌های زیستی برای افزایش سازگاری، هدف گرفتن انتخابی سایر مولکول‌های زیستی، افزایش نیمه عمر در گردش خون و کاهش سرعت متابولیسم نانوذرات، استفاده می‌شوند.

انتقال هدفمند نانوذرات مغناطیسی به سلول‌های سرطانی با دو نوع روش فعال و غیرفعال انجام می‌شود. در روش فعال با استفاده از لیگاندهای مولکولی اختصاصی سلول‌های توموری و با تابش میدان مغناطیسی خارجی به ناحیه تومور، انتقال هدفمند نانوذرات صورت می‌گیرد اما در روش غیرفعال بواسطه‌ی اثر نفوذپذیری تقویت شده و ابقاء^۱ EPR نانوذرات به تومور نفوذ می‌کنند. اصول هدفگیری غیرفعال بر اساس ویژگی‌های سیستم انتقالی و پاتولوژی بیماری بنا نهاده شده است. به دلیل محدود شدن اندازه نانوذرات مغناطیسی در مقیاس نانو این ذرات بر اساس نفوذپذیری تقویت شده و ابقاء به تومور تجمع می‌یابند. سیستم عروقی تومور جامد به دلیل دارا بودن منافذ زیاد و همچنین گشاد بودن و قدرت نشت کنندگی بالا، این سیستم نانوذرات مغناطیسی را از جریان خون جدا کرده و از لابلای منافذ عروقی تومور عبور داده و وارد بافت تومور می‌کند (نشت یا نفوذ تقویت شده). به دلیل ضعیف بودن قدرت زهکشی لنفاتیکی در اطراف تومور این ذرات در بافت تومور باقی می‌مانند (ابقاء). فرایند رگ‌زایی^۲ در بافت تومور غیرعادی بوده و به همین دلیل سیستم عروقی بافت تومور خصوصیات مهمی از جمله وجود فواصل و منافذ زیاد و همچنین قدرت نشت کنندگی بالایی^۳ را دارا هستند. هرچه منافذ زیاد و گشادتر باشند به میزان بیشتری در جذب و ابقاء نانوذرات به درون تومور نقش ایفا می‌کنند. این در حالی است که سیستم عروقی بافت‌های نرمال این ویژگی را ندارند. سلول‌های اندوتلیال سیستم عروقی در بافت نرمال، بسیار چسبیده و نزدیک به هم قرار گرفته‌اند که از این طریق سد بزرگی را در مقابل نانوذرات به درون بافت ایجاد می‌کنند، پس اختلاف در نفوذپذیری عروقی بافت سالم و بافت تومور باعث فراهم شدن تجمع انتخابی نانوذرات در بافت تومور می‌شود. [۲-۳]

¹ Enhanced Permeability and Retention

² Angiogenesis

³ Leaky Vasculature

امروزه ^{68}Ga به عنوان یکی رادیویازوتوپ‌های مناسب در پزشکی هسته‌ای جهت مقاصد تشخیصی شناخته شده است. این رادیویازوتوپ با نیمه عمر $67/63$ دقیقه و با گسیل پوزیترون با انرژی بیشینه $1/89 \text{ MeV}$ ($1/87$) و پرتوهای گاما 1077 KeV ($3/22$) دارای ویژگی‌های با انرژی بالاست. در واقع این رادیویازوتوپ به خاطر داشتن نیمه عمر کوتاه و سهولت تولید یکی از بهترین رادیویازوتوپ‌های فلزی به شمار می‌آید. این رادیودارو در شکل ژنراتور $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ تولید می‌شود که از جنبه‌های اقتصادی و صرفه جویی بیشتر قابل قبول است.

چین و همکاران^۴ در سال ۲۰۱۰ نانوذرات اکسید آهن را با دوپامین روکش کردند و به ^{64}Cu متصل کردند آن را با به آلبومین سرم انسان تزریق کردند و بوسیله PET و MRI تصویربرداری کردند که نتیجه آن افزایش جذب توموری و کاهش جذب در ماکروفاژ بود [۴]. چیدم و همکاران^۵ در سال ۲۰۱۲ با اتصال گوانین به نانوذرات مغناطیسی (MNP) به منظور تصویربرداری و تشخیص در نواحی کبد و شش آزمایش درونتنی پس از تجویز داخل وریدی سطح بالای رادیواکتیو در کبد و ریه مشاهده نمودند [۵]. فتاحیان و همکاران در سال ۲۰۱۲ نانوذرات را با استفاده از DMSA روکش کردند و با $^{99\text{m}}\text{TC}$ نشاندار کردند و سمیت و توزیع زیستی در موش سالم را ارزیابی کردند که نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات آهن از طریق غشای سلول های مختلف منتقل می‌شوند اما هیچ اختلالی در عملکرد کلیه و کبد ایجاد نمیکنند حتی در دوزهای بالا [۶]. آزادبخت و همکاران در سال ۲۰۱۷ به بررسی مقایسه دوز جذب شده ^{188}Re -Rituximab در انسان با استفاده از روکش نانوذرات اکسید آهن و آزاد بصورت مطالعه زیستی در موش ها پرداختند. بطور کلی دوز جذبی با استفاده از نانوذرات اکسید آهن روکش شده به دلیل پدیده نفوذپذیری تقویت شده و ابقاء افزایش و تاثیر آن مشاهده گردید [۷]. حاجی رمضانعلی و همکاران در سال ۲۰۱۹ بومبسیسین را به تری متیل کیتوسان متصل و با نانوذرات مغناطیسی روکش و در انتها با ^{68}Ga نشاندار کردند، سپس بصورت درونتنی پس از تجویز بوسیله PET و MRI تصویربرداری تصویربرداری کردند و که نتایج نشان می‌دهد به عنوان یک عامل امیدوار کننده برای هدف گیری گیرنده GRP^6 می باشد [۸].

در این مقاله، اثر انتقال هدفمند به روش غیرفعال با استفاده از نانوذرات اکسید آهن رادیونشاندارسازی شده با ^{68}Ga بواسطه اثر نفوذپذیری تقویت شده و ابقاء به سلول های سرطانی و جذب توموری در اندام های موش های توموری طی زمان های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ دقیقه مورد بررسی و توزیع زیستی نانوذرات پرتوزا در اندام های مختلف بر اساس ID/g (مقدار اکتیویته جذب شده در اندام مورد نظر نسبت به کل اکتیویته تزریقی بر جرم اندام هدف) محاسبه و با رسم نمودار مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف از این پژوهش، تعیین میزان و راه دفع، میزان پایداری درونتنی نانوذرات نشاندار شده و میزان جذب و نگهداری رادیوداروی آزاد شده در بافت های مختلف به خصوص کبد و کلیه است، که مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت.

۲. روش کار

۱- مواد و دستگاه ها:

رادیونوکلئید ^{68}Ga ، از ژنراتور $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ با اکتیویته ۴۰ میلی کوری تولید شده در سازمان انرژی اتمی (شرکت پارس ایزوتوپ) تهیه شد. کلراید، سولفات، نیترات و پرکلرات از شرکت سیگما-آلدریج انگلستان و کلریدهای آهن و هیدروکسید سدیم و دیگر مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان خریداری شده است. توزیع زیستی با شمارش اکتیویته پرتوزایی از ارگان های جدا شده از بدن موش های BALB/c ماده با سن ۵-۶ هفته متحمل سرطان سینه از نوع $4\text{T}1$ خریداری شده از موسسه رازی کرج، توسط آشکارساز ژرمانیوم با خلوص بالا HPGe مدل GC1020-7500SL ساخت شرکت کنبرا آلمان مورد بررسی قرار گرفت. کاغذ کروماتوگرافی مورد استفاده جهت تعیین خلوص رادیوشیمیایی از نوع (Watman No.2) و دستگاه RTLC Scanner مدل AR2000 BioScan ساخت

⁴ Jin Xin

⁵ Çiğdem İçhedef,

⁶ Gastrin-releasing peptide

کسور فرانسه، برای ترکیبات نشاندار استفاده شد. دستگاه TEM^۷ مدل EM-10C-100KV ساخت شرکت ZEISS آلمان استفاده شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت مواد پرتوزا از دستگاه دزکالیبراتور مدل RAMS-88 استفاده شده است.

۲- سنتز نانوذرات اکسید آهن:

متداول ترین روش برای سنتز اکسیدهای آهن روش هم‌رسوبی است. روش مذکور شامل ترکیب نمودن یونهای Fe^{۲+} و Fe^{۳+} آهن به نسبت مولی ۱ به ۲ در محلول دردمای اتاق یا در دماهای بالاتر است. مقدار ۰/۳۳ گرم FeCl₃ و ۰/۲۸ گرم FeSO₄.7H₂O در ۴۰ میلی لیتر آب مقطر (تحت جو نیتروژنی) حل شد. محلول حاصل به آرامی در روی همزن مغناطیسی قرار گرفته (تحت جو نیتروژنی) و دمای آن به ۷۰ درجه سلسیوس رسیده، سپس ۵ میلی لیتر محلول آمونیوم (۲۵ درصد) به داخل ظرف اضافه نموده و هم زدن به مدت ۳۰ دقیقه ادامه یافته تا نانوذرات رشد نمایند. سپس محلول تا دمای اتاق سرد می‌گردد. ذرات حاصل شده با آب مقطر شسته شده و سپس در یک آون در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد خشک خواهد شد.

۳- اصلاح سطح نانوذرات:

اصلاح سطوح نانوذرات اکسید آهن با استفاده از کربوکسی‌متیل کیتوزان^۸ انجام شد. بدین منظور ۱ گرم کیتوزان، ۱/۵ گرم هیدروکسید سدیم و ۲۰ میلی لیتر مخلوطی از آب و پروپانول (با نسبت ۱ به ۹) را در یک بالون ۱۰۰ میلی لیتری برای مدت ۱ ساعت ترکیب گردید تا کربوکسی‌متیل کیتوزان حاصل گردد. ۱/۶ گرم مونوکلرواستیک اسید^۹ را در ۳ میلی لیتر پروپانول حل کرده و بصورت قطره قطره به مدت ۳۰ دقیقه به ترکیب اضافه نموده و به مدت ۴ ساعت در همان درجه حرارت قرار داده شد. سپس با اضافه نمودن ۲۵ میلی لیتر اتانول (۷۰ درصد) واکنش به پایان رسید. رسوب حاصل فیلتر شده و به منظور نمک‌زدایی و آب‌زدایی با اتانول ۸۰ درصد شستشو داده شده و در دمای اتاق در خلاء خشک گردید. محصول حاصل نمک سدیمی کربوکسی‌متیل کیتوزان است. سپس ۱۰۰ میلی گرم از نانوذرات سنتز شده در مرحله قبل به ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید. با اضافه نمودن هیدروکسید سدیم (۰/۱ مولار)، pH واکنش به ۸ رسانده شد. سپس محلول به مدت ۱۰ دقیقه در حمام التراسونیک قرار گرفت. در نهایت نمک سدیم کربوکسی‌متیل کیتوزان به محلول نانوذرات اضافه شد و ظرف واکنش به مدت ۲۰ دقیقه مجدداً در حمام التراسونیک قرار گرفت و به مدت ۱۲ ساعت همزده شد. محصول Fe₃O₄-CMC توسط آهن‌ربا جمع آوری و با آب مقطر شسته شد. شستشوی مغناطیسی به این صورت است که نانوذرات از بیرون توسط یک آهن‌ربا هدایت شده و از محلول آن جدا می‌گردد.

۴- اتصال نانوذرات روکش شده با شلاتور DOTA-NHS

مقدار ۵ میلی گرم از شلاتور DOTA-NHS^{۱۰} با ۱ میلی لیتر از نانوذرات آمین دار شده در PBS با pH ۷/۵ (با غلظت ۱۰ میلی گرم آهن بر میلی لیتر) ترکیب گردیده و در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفت. مقدار اضافی شلاتور از محصول DOTA-SPIONs توسط شستشوی مغناطیسی جدا گردید. اتصال مذکور از طریق DOTA-NHS به گروه‌های آمین (NH₂) CMC موجود در سطح نانوذرات انجام شد. پس از تایید رادیونشاندارسازی بطور غیر مستقیم اتصال شلاتور به نانوذرات اثبات می‌گردد.

۵- رادیونشاندارسازی نانوذرات

مقدار ۶۰۰ میکرولیتر (حاوی ۵ میلی گرم) از نانوذرات متصل به DOTA با ۲ میلی کوری از ^{۶۸}Ga آزاد (گالیوم کلراید) به حجم ۳۰۰ میکرولیتر در بافر آمونیوم استات ۰/۱ مولار با pH ۵/۵ در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای مدت ۱ ساعت در حمام التراسونیک قرار گرفت. سپس ۵ میکرولیتر EDTA محلول ۱۰ میلی مولار به آن اضافه گردید (در دمای ۳۷

⁷ Transmission Electron Microscopy

⁸ Carboxymethyl Chitozan

⁹ Monochloroacetic Acid

¹⁰ Chelator

درجه سلسیوس و به مدت ۵ دقیقه) تا ^{68}Ga آزاد با تشکیل کمپلکس با EDTA توسط شستشوی مغناطیسی مجدد از آن جدا گردد.

۶- ارزیابی توزیع زیستی

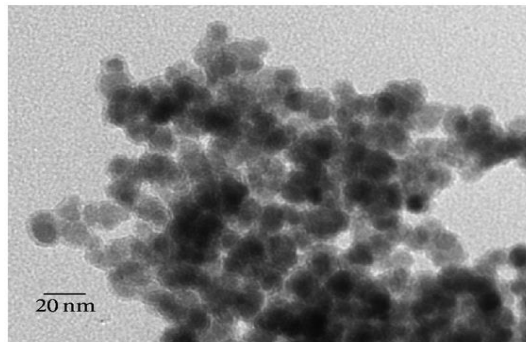
به منظور ارزیابی توزیع زیستی نانورادیوداروی حاصل در موش‌های توموری ابتدا محلول با استفاده از صافی ۰/۲۲ میکرون فیلتر شد. سپس حدود ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول (حاوی ۱۰۰ میکروکوری اکتیویته، ۰.۲ میلی گرم آهن) و محلول ^{68}Ga کلراید با اکتیویته ۱۰۰ میکروکوری به موش‌های توموری از طریق ورید دمی تزریق شد، که بعد از گذشت زمان های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق حیوانات به وسیله روش خفگی قربانی شدند. در ادامه بافت های مورد نظر با نرمال سالین شسته و وزن شدند و فعالیت ویژه آن‌ها توسط آشکارساز $^{11}\text{HPGe}$ مجهز به ابزار نگه دارنده نمونه، شمارش شد. میزان اکتیویته موش‌ها به صورت میانگین \pm (انحراف معیار) بیان گردید و در هر بازه زمانی آزمایش، تعداد ۳ موش مورد آزمایش قرار گرفت. این فاکتور بیان گر این حقیقت است که چه درصدی از اکتیویته کل (تزریق شده) در هر گرم از بافت مورد نظر تجمع یافته است.

$$\frac{ID}{g} \% = \frac{\text{Vial activity (Bq)}}{\text{tissue net weight (g)} \times \text{total injected tissue (Bq)}} \times 100$$

۳. نتایج

۱- ارزیابی اندازه و همگنی نانوذرات سنتز شده

با استفاده از دستگاه TEM شناسایی ابعاد، شکل و همگنی نانوذرات اصلاح شده مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به تصویر، نانوذرات مغناطیسی سنتز شده با روکش کیتوزانی تک پخش بوده و دارای قطر متوسط ۲۰ نانومتر می‌باشند. (شکل ۱)



شکل ۱. تصویر TEM نانوذرات سنتز شده

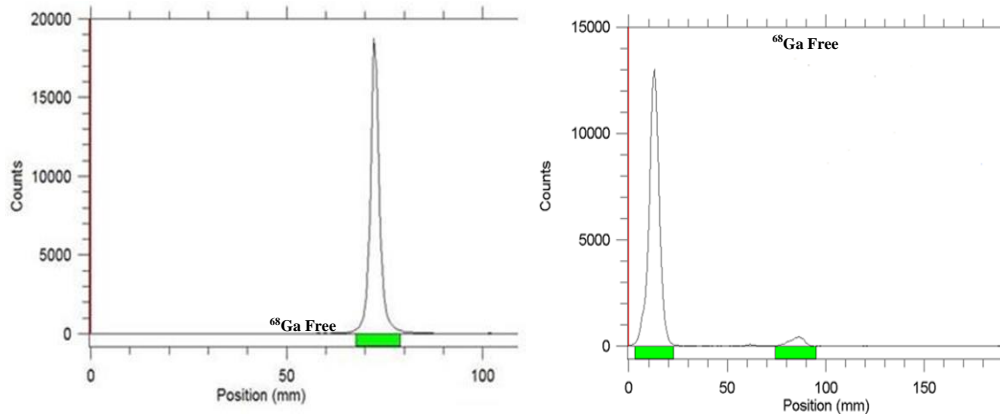
۲- تعیین و ارزیابی بهره نشاندارسازی

مقدار بسیار کمی از محلول ^{68}Ga آزاد (کلراید) و همچنین محلول نهایی نانوذرات نشاندار شده با ^{68}Ga بر روی کاغذ (Watman No.2) کروماتوگرافی به عنوان فاز ثابت قرار داده شده و پس از خشک کردن کاغذ در تانک حاوی حلال DTPA (فاز متحرک) با غلظت ۱ میلی مولار قرار داده شد. سپس کاغذ ITLC را خشک کرده و بهره نشاندارسازی با استفاده از اسکنر ^{12}RTL مورد ارزیابی قرار گرفت که بهره رادیونشاندارسازی نانوذرات $97 \pm 1.4\%$ در فاز

¹¹ High Purity Germanium

¹² Radio Thin Layer Chromatography

متحرک DTPA بود. در نهایت مقدار جزئی ^{68}Ga آزاد موجود در محلول با اضافه نمودن مجدد EDTA و شستشوی مغناطیسی از محلول انجام شد. (شکل ۲)



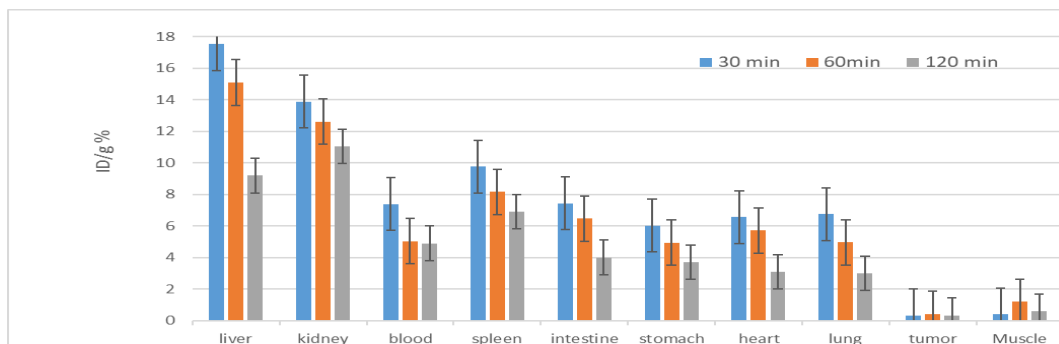
شکل ۲. سمت راست مربوط به گالیوم ^{68}Ga آزاد (گالیوم کلراید) و سمت چپ مربوط به نانوذرات پرتونشاندار شده با گالیوم ^{68}Ga -۳ بررسی پایداری

پایداری محصول سنتز شده در طول ۴ ساعت بررسی گردید. نتیجه ی RTLC پس از ۴ ساعت حاکی از خلوص رادیوشیمیایی بیش از ۹۶٪ بود که نشان می دهد ترکیب نشاندار پس از این مدت هم چنان پایدار است.

۴- نتایج توزیع زیستی

توزیع زیستی ترکیب نانوذرات رادیونشاندار شده با ^{68}Ga و همچنین محلول ^{68}Ga کلراید در موش‌های توموری متحمل سرطان سینه از نوع T1 (murine mammary carcinoma cells) مورد ارزیابی قرار گرفت. جذب توموری بر اساس ID/g% از 0.34 ± 0.34 و 0.42 ± 0.45 ، 0.34 ± 0.50 ، 1.1 ± 1.1 ، 2.24 ± 0.4 ، 30.30 ± 0.30 دقیقه پس از تزریق افزایش یافت که اثر افزایش نفوذپذیری و ابقاء نانوذرات ساز و کار غالب برای جذب توموری ترکیب نانورادیودارو بوده است.

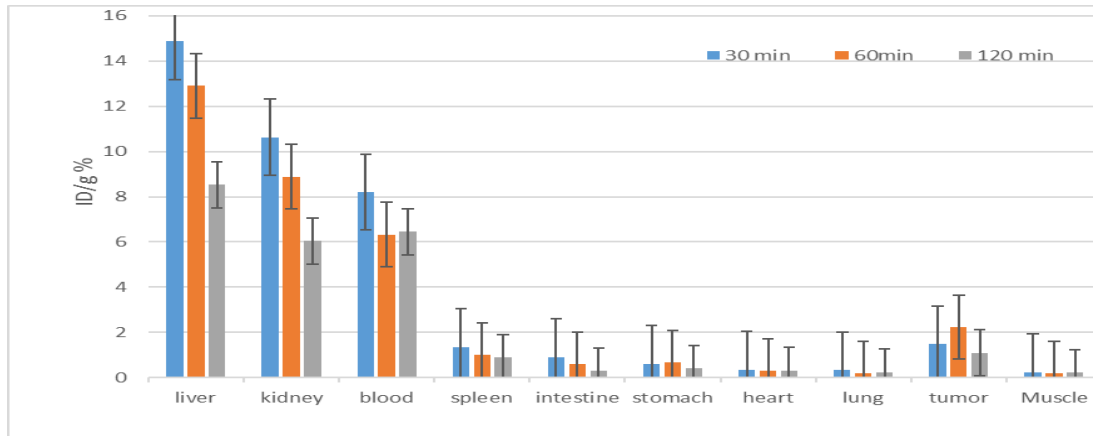
مقدار ID/g% خون 7.4 ± 1.27 ، 5.04 ± 0.69 ، 4.9 ± 0.73 برای ^{68}Ga به 8.02 ± 1.48 ، 6.33 ± 1.19 ، 6.46 ± 0.9 برای حالت ترکیب نانوذرات رادیونشاندار شده با ^{68}Ga به موش‌های توموری در زمان های 30.30 و 120 دقیقه پس از تزریق افزایش یافته است که دلیل آن اصلاحات سطحی مناسب نانوذرات است که به گریز نانوذرات از سلول‌های RES¹³ منجر گردیده است.



شکل ۳. مقادیر (ID/g%) حاصل از تزریق ترکیب ^{68}Ga به موش‌های توموری در زمان های 30.30 و 120 دقیقه پس از تزریق (تعداد ۳ موش در هر بازه زمانی قربانی شده اند)

¹³ Reticuloendothelial System

در این از پژوهش به منظور رسانش رادیودارو و تشخیص تومورهای سرطانی از نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن استفاده شد. مقدار جذب ($ID/g\%$) ترکیب ^{68}Ga آزاد در موش‌های مذکور و در زمان‌های گوناگون نشان می‌دهد جذب در ارگانهای دفعی مانند کبد، کلیه بسیار زیاد بوده و به مرور زمان کاهش می‌یابد. همچنین با توجه به نتایج، جذب توموری نیز بسیار پایین است. در حقیقت جذب توموری و ماهیچه کناری آن که به عنوان شاهد در نظر گرفته شده است تقریباً یکسان است و گزینش خاصی برای ورود ^{68}Ga به بخش تومور وجود نداشته است. (شکل ۳)



شکل ۴. مقادیر ($ID/g\%$) حاصل از تزریق ترکیب نانوذرات رادیونشاندار شده با ^{68}Ga به موش‌های توموری در زمان‌های ۳۰، ۶۰، و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق (تعداد ۳ موش در هر بازه زمانی قربانی شده اند)

جذب ($ID/g\%$) حاصل از تزریق ترکیب نانوذرات رادیونشاندار شده با ^{68}Ga در موش‌های مذکور و در زمان‌های گوناگون نشان می‌دهد جذب در ارگان‌های دفعی مانند کبد، کلیه بسیار زیاد بوده و به مرور زمان کاهش می‌یابد که یکی از دلایل آن شناسایی و حذف نانوذرات مذکور به عنوان یک ذره خارجی توسط سامانه ایمنی بدن از جریان گردش خون است. در صورت عدم استفاده از روکش کیتوزانی به منظور اصلاح سطح نانوذرات، مقدار جذب آنها در ارگان‌های دفعی بسیار افزایش می‌یافت همچنین با توجه به نتایج، جذب توموری نسبت به حالت ^{68}Ga آزاد افزایش پیدا کرده است، جذب توموری نسبت به ماهیچه کناری آن که به عنوان شاهد در نظر گرفته شده بیشتر است. این افزایش جذب بدلیل استفاده از نانوذرات حاصل شده است. (شکل ۴)

اندام‌های دیگر (غیر توموری) جذب نسبتاً پایینی از نانوذرات را انجام داده‌اند که به دلیل اندازه مناسب آنها و اصلاح سطحی آنان توسط پلیمر کیتوزان است. جذب بالای توموری نیز نسبت به ارگان‌های دیگر بطور وضوح مشهود است. در مقایسه با حالت ^{68}Ga کلراید جذب توموری به دلیل اثر افزایش ابقا و نفوذپذیری تومورها برای ماکرومولکول‌ها و نانوذرات افزایش یافته است.

۴. نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج مطالعه توزیع زیستی استفاده از ترکیب نانوذرات اکسید آهن اصلاح شده پرتونشاندار نمایانگر ابقای اولیه نانوذرات در خون و قابلیت در هدف‌گیری تومور را نشان می‌دهد که آنها را قادر می‌سازد تا برای انجام تشخیص و درمان سرطان مناسب باشند.

۵. تشکر و قدردانی

از همکاری و مساعدت جناب آقای دکتر حمیدرضا ذوالعطا از اعضای پژوهشگاه هسته‌ای سازمان انرژی اتمی کرج که ما را در کارهای آزمایشگاهی یاری رسانیدند کمال تقدیر و تشکر را داریم.

۶. مراجع

1. Sean J. Morrison & Judith Kimble. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature* 2006; 44 (1): 1068-74.
2. Greish, K. et al. (2006) Enhanced permeability and retention (EPR) effect and tumorselective delivery of anticancer drugs. (Torchillin, V.P., ed.), pp. 37–52, Imperial College Press, London.
3. Arun K. Iyer¹, Greish Khaled² (2006) Exploiting the enhanced permeability and retention effect for tumor targeting, Jun Fang¹ and Hiroshi Maeda¹
4. PET/NIRF/MRI triple functional iron oxide nanoparticles. Xie J, Chen K, Huang J, Lee S, Wang J, Gao J, Li X, Chen X. *Biomaterials* 31 (2010) 3016–3022.
5. Preparation and characterization of radiolabeled magnetic nanoparticles as an imaging agent. Çiğdem İçhedef, Serap Teksöz, Perihan Ünak, Emin İ. *MedineJ Nanopart Res* 14 (2012) 1077
6. Biodistribution and toxicity assessment of radiolabeled and DMSA Coated ferrite nanoparticles in mice, *J Radioanal Nucl Chem* (2012) 293915–921. 6.
7. Azadbakht, Bakhtiar, Hossein Afarideh, Mohammad Ghannadi-Maragheh, Ali Bahrami-Samani, and Hassan Yousefnia. "Absorbed doses in humans from ¹⁸⁸Re-Rituximab in the free form and bound to superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Biodistribution study in mice." *Applied Radiation and Isotopes* 131 (2018): 96-102.
8. Hajiramezanali, Maliheh, Fatemeh Atyabi, Mona Mosayebnia, Mehdi Akhlaghi, Parham Geramifar, Amir Reza Jalilian, Seyed Mohammad Mazidi, Hassan Yousefnia, Soraya Shahhosseini, and Davood Beiki. "⁶⁸Ga-radiolabeled bombesin-conjugated to trimethyl chitosan-coated superparamagnetic nanoparticles for molecular imaging: preparation, characterization and biological evaluation." *International journal of nanomedicine* 14 (2019): 2591.