گزارش کوتاه
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۳، دی ۱۳۹۳، ۱۰۱۸-۱۰۱۳

کاربرد میکرو ذرات چیتوزان – تکنسیوم-۹۹ در تصویربرداری ریه موش: یک گزارش کوتاه

سمیرا رسانه[۱]، فریبا جوهری دها[۲]

دریافت مقاله: ۹۳/۵/۵ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۳/۶/۱ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۳/۶/۲۱ پذیرش مقاله: ۹۳/۷/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: اسکن پرفیوژن ریه، در پزشکی هسته‌ای به کمک آلبومین ماکروآگرگیته-^{99m}Tc که ذراتی نشاندار است انجام می‌شود. مشکلات و سختی‌هایی حین ساخت این ذرات وجود دارد که برای رفع این معضل، از میکروذرات چیتوزان به عنوان جایگزین استفاده شد و بعد از خالص سازی با تکنسیوم نشاندار گردید.

مواد و روش‌ها: تست‌های کنترل کیفی اعم از تعیین اندازه ذرات، درصد نشاندارسازی، پایداری در بافر سالین و تصویربرداری با سیستم پزشکی هسته‌ای در بدن موش انجام شد.

یافته‌ها: اندازه ذرات ۹۰-۱۱۰ میکرون، درصد نشاندارسازی ۳±۹۴٪، پایداری بالا در بافر سالین و تجمع بسیار خوب در ریه‌های موش مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که میکروذرات چیتوزان-تکنسیوم۹۹ احتمالا میتواند یک کاندیدای امیدوارکننده برای کاربرد تشخیصی در اسکن پرفیوژن ریه بکار گرفته شود که نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

واژه‌های کلیدی: چیتوزان، اسکن پرفیوژن ریه، آلبومین ماکروآگرگیته-^{99m}Tc، تکنسیوم

مقدمه

در پزشکی هسته‌ای اسکن پرفیوژن ریه به کمک ذرات نشاندار انجام می‌شود. اساس جذب این ذرات در مویرگ‌های ریه بر اساس اندازه آنها است. مویرگ‌های ریه قطری در حدود ۸-۲۵ میکرون دارند و ذرات بزرگتر در این مویرگ‌ها گیر کرده و هر گرفتگی و یا مشکل دیگری در خون‌رسانی را نشان می‌دهند. در حال حاضر برای تصویربرداری پرفیوژن ریه از آلبومین ماکروآگرگیته-^{99m}Tc (MAA) با ابعادی بین ۱۰-۱۵۰ میکرومتر استفاده می‌شود. روش ساخت، آماده‌سازی ذرات و نشاندارسازی این کیت بسیار پیچیده و پرزحمت است. از طرفی اندازه ذرات MAA بسیار متغییر بوده (۱۰-۱۵۰ میکرومتر) و باعث ایجاد جذب کبدی، طحال، کلیوی و متعاقب آن باعث تداخلاتی در تصویربرداری پزشکی هسته‌ای می‌گردد [۱].

۱- (نویسنده مسئول) استادیار پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای
تلفن: ۸۲۰۶۳۴۶۲-۰۲۱، دورنگار: ۸۸۲۲۱۱۰۵-۰۲۱، پست الکترونیکیsamira_rasaneh@hotmail.com
۲- استادیار پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.10.5.4]

چیتوزان یک پلیمر با نام علمی β-D (1-4) N-acetly-glucosamine است که به دلیل داشتن خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاص همواره در پزشکی مد نظر بوده است [۲]. داشتن خصوصیات انبساط و کشیدگی شدید، خاصیت ضد ویروسی و ضد باکتریایی، غیر سمی و غیر آلرژیک بودن، عدم حلالیت در آب، قدرت بالا در جذب مواد رنگی و خاصیت ژله‌ای شدن برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی چیتوزان است.

در مطالعه که توسط Banerjee و همکارانش انجام شد، روشی برای سنتز نانو ذرات چیتوزان با اندازه‌های کوچک تر از ۱۰۰ نانومتر و نشاندارسازی آن با تکنسیوم ارائه دادند. آنها پس از سنتز و نشاندارسازی نانوذرات، آن را به موش تزریق و توزیع زیستی آن را مورد بررسی قرار دادند [۳].

Kim و همکاران، دو ترکیب متفاوت از چیتوزان را با تکنسیوم نشاندار نموده و توزیع زیستی این دو ترکیب را مورد بررسی قرار دادند که در نهایت مشاهده شد که Galactosyl-methylated chitosan نشاندار شده با تکنسیوم در مقایسه با ترکیب دیگر Hydrazinonicotinamide-Galactosylated Chitosan نشاندار شده با تکنسیوم، تجمع بیشتری در کبد می‌یابد [۴].

این گروه در ادامه در سال ۲۰۰۶، دو ترکیب مختلف دیگر از چیتوزان شامل Hydrazinonicotinamide-Galactosylated Chitosan و hydrazinonicotinamide Chitosan را با تکنسیوم نشاندار کرده و پس از تزریق آن به موش Balb/c و بررسی توزیع زیستی آنها در ۱۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه، تصاویری از موش‌ها با کمک دوربین گاما گرفتند که جذب بیشتر Hydrazinonicotinamide-Galactosylated Chitosan را در کبد و کلیه نشان می‌داد [۵].

به علت برخی سختی‌ها و مشکلاتی که در شرایط ساخت، نگهداری و نشاندارسازی کیت ^{99m}Tc–MAA وجود دارد و با توجه به خصوصیات خوب و بارز پلیمر چیتوزان، تصمیم گرفته شد تا میکروذرات چیتوزان، سنتز و با تکنسیوم نشاندار شود و بعد از انجام آزمون‌های کنترل کیفی، قابلیت آن در تصویربرداری از ریه سنجیده شود.

در این تحقیق از ذرات نشاندار چیتوزان در ابعاد محدودتر که با روشی بسیار ساده و سریع بدست می‌آید استفاده شد تا بتوان برآوردی از قابلیت این دارو و احیانا جایگزینی آن به جای آلبومین ماکروآگرگیته-^{99m}Tc بدست آورد.

مواد و روش‌ها

چیتوزان با وزن مولکولی kD ۲۰۰ با درجه استیل زدائی ۸۵٪، سدیم تری پلی فسفات واسید استیک از شرکت سیگما تهیه شد. تهیه نانوذرات چیتوزان خالص به روش ژله‌ای شدن (Ionotropic gelation) انجام شد [۶]. برای این منظور ۵ میلی‌لیتر محلول چیتوزان در اسید استیک دو درصد (۲ mg/mL) به ۲ میلی‌لیتر از محلول سدیم تری‌پلی فسفات (۱ mg/mL) اضافه شد. بعد از هم زدن به مدت ۱۰ دقیقه محلول کلوئیدی بدست آمده حاوی میکرو ذرات چیتوزان است که بعد از شستشو با کمک فیلتر کردن و سانتریفیوژ، ذرات در محدوده ۹۰-۱۱۰ میکرون جدا شدند. نشاندارسازی میکروذرات چیتوزان، به روش مستقیم و با احیا کردن تکنسیوم به کمک کلرید قلع، مطابق روش Banerjee و همکارانش انجام شد [۳].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.10.5.4]

پس از تهیه اندازه نانوذرات و پتانسیل زتا توسط دستگاه زتا سایزر مالورن اندازه گیری شد. همچنین، ابعاد نانوذرات در حالت خشک با میکروسکوپ الکترونی(TEM) تعیین شد.

به روش (Instant Thin Layer Chromatography ITLC) با استفاده از نوارهای واتمن شماره ۱به عنوان فاز ثابت و بافر سالین به عنوان حلال ارزیابی گردید. روش کار بدین صورت است که ورقه ITLC با ابعاد ۱۴ cm × ۱ بریده می‌شود و به فاصله ۱/۵ cm از ابتدای آن نمونه‌گذاری (۵ µl) می‌شود و پس از خشک شدن نمونه، ورقه برای جداسازی در تانک محتوی نرمال سالین قرار داده می‌شود. بعد از طی حدود ۱۰ cm توسط فاز متحرک، به ورقه فرصت داده می‌شود تا خشک شود. آنگاه ورقه به قطعات ۱ cm بریده می‌شود و مقدار اکتیویته در هر قطعه توسط دستگاه شمارنده گاما شمارش می‌شود. مجموع اکتیویته موجود در دو سانتی‌متر اول به اکتیویته کل تقسیم می‌شود تا بازده نشاندارسازی بدست آید.

از کمپلکس میکرو ذرات چیتوزان-تکنسیم در زمانهای ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۳۰۰ دقیقه بعد نشاندارسازی نمونه‌هایی(۱۰µCi) برداشته و بازده نشاندارسازی به روش ITLC که در بالا توضیح داده شد، ارزیابی گردید.

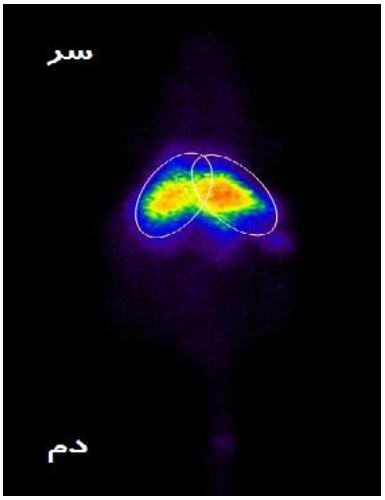
جهت تصویربرداری به ۶ تا موش سالم BALB/c با سن ۸-۶ هفته و وزن ۳۵g-۲۵ ، ۲۵۰µCi/۱۰۰µl از چیتوزان-تکنسیوم تزریق و بعد ۱۵ دقیقه، با سیستم تصویربرداری پزشکی هسته‌ای تصاویر استاتیک با کولیماتور LEHR (Low Energy High Resolution) و در ابعاد ۵۱۲ × ۵۱۲ با شمارش ۳۰۰ کیلو کانت بر پیکسل گرفته شد.

تعداد نمونه‌ها در همه بخش‌ها، ۶ عدد در نظر گرفته شد که این عدد با کمک نرم‌افزار Mini Tab محاسبه شد.

برای بالا رفتن دقت محاسبات هر اندازه‌گیری سه بار تکرار و در نهایت میانگین گیری و نتایج بصورت میانگین± انحراف معیار گزارش شد. کلیه داده‌ها در نرم‌افزار SPSS وارد و با کمک آن، تحلیل آماری و آزمون t-test برای مقایسه بین گروه‌های مختلف انجام شد. حدود معنی‌داری $p < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

اندازه ذرات باسیستم (DLS) [Dynamic Light Scattering] در محیط آبی و شکل ذرات به کمک میکروسکوپ الکترونی تعیین شد. اندازه ذرات بین ۹۰-۱۱۰ میکرون و به شکل تقریباً کروی بدست آمد. بازده نشاندارسازی کمپلکس، ۶۰ دقیقه پس از انکوباسیون، ۳±۹۴٪ بدست آمد. پایداری این ترکیب نشاندار، تا ۳۰۰ دقیقه بعد از نشاندارسازی، در حدود ۹۸٪ بدست آمد. تصویربرداری از موش ۱۵ دقیقه بعد از تزریق چیتوزان-تکنسیوم به کمک سیستم پزشکی هسته‌ای انجام شد که تصویر یک موش نمونه در شکل ۱ نمایش داده شده است. مشخص شدن دو ریه در تصویر نشان از جذب بالای دارو در داخل ریه دارد.



شکل ۱- تصویر پزشکی هسته‌ای از یک موش نمونه، ۱۵ دقیقه بعد از تزریق چیتوزان-تکنسیم

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.10.5.4]

بحث

هدف این تحقیق، معرفی ذرات نشاندار چیتوزان با ابعاد محـــدودتر از آلبـــومین ماکروآگرگیتـــه-^{99m}Tc و احیانـــا جایگزینی آن در تصویربرداری از ریه در پزشکی هسـته‌ای است.

انـدازه ذرات بعـد از خـالص سـازی ۹۰-۱۱۰ میکـرون انتخاب شد. بازده نشاندارسازی بسیار بـالا و ۹۴ ٪ بدسـت آمد. نتیجه بررسی درصد پایـداری ایـن ترکیـب، حتـی ۵ ساعت بعد نشاندارسازی بسیار امیدوار کننده بود. به علـت اندازه بزرگ ذرات در اولین عبور از ریه داخل مویرگ‌هـای آن گیر کرده و مقادیر بسـیار کـم آن وارد سـایر انـدام‌هـا میشود و تصاویر پزشکی هسـته‌ای کـه ۱۵ دقیقـه بعـد از تزریق از موش گرفته شد موید همین نکته است.

Ergun و همکارانش میکروسفرهای پلی‌لاکتیک اسید(poly lactic acid) را ساخته و با تکنسیوم نشاندار کردند و نهایتاً آن را برای کاربرد تشخیصی در ریه موش و خرگوش، مورد استفاده قرار دادند. ابعاد ذرات آنها ۱-۱۰ میکرون و بازده نشاندارسازی ۹۸٪ بود. نتایج توزیع حیاتی در موش و خرگوش نشان داد که این دارو تجمع بسیار سریع و مناسب در ریه، ولی خروج کندی از آن دارد که این یکی از معایب آن به شمار می‌رود [۷].

Hafeli و همکـــارانش بـــا poly l-lactide acide میکروذراتی تـک انـدازه سـاختند کـه اولا شـامل گیرنـده bis(picolylamine) در انتهای آن بود و ثانیاً اندازه آنهـا ۹ میکرون بود. آنهـا ایـن ذرات را بـه کمـک کیـت کربونیـل نشاندار کرده و نشان دادند کـه ۱۵ دقیقـه بعـد از تزریـق، تقریبا ۸۰٪ ذرات در ریه گیر افتـاده‌انـد. آنهـا ادعـا کـرده بودند کـه تـک انـدازه کـردن ذرات باعـث بهبـود کیفیـت تصویربرداری می‌شود [۸].

البته در این تحقیق زمان از بین رفـتن و خـارج شـدن میکروذرات بررسی نشـده اسـت کـه امیـدواریم در آینـده نزدیک به این موضوع بپردازیم.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمـده مـی‌تـوان نتیجـه گرفـت میکروذرات چیتوزان نشاندار شـده بـا تکنسـیوم، احتمـالاً می‌تواند کاندیدای خوبی جهت مطالعـات پرفیـوژن کبـدی در پزشکی هسته‌ای باشد که برای نتیجه‌گیری نهایی نیـاز به مطالعات تکمیلی بیشتری در این زمینه است.

References

[1] Weitz JI. Pulmonary embolism. In: Goldman L, Schafer AI, eds. Cecil Medicine. 24th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2011:chap 98.

[2] Wang JJ, Zeng ZW, Xiao RZ, Xie T, Zhou GL, Zhan XR, et al. Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. *Int J Nanomedicine* 2011; 6: 765–74.

[3] Banerjee T, Mitra S, Kumar Singh A, Kumar Sharma R, Maitra A. Preparation, characterization and

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.10.5.4]

biodistribution of ultrafine chitosan nanoparticles. *Int J Pharm* 2002; 243(1-2): 93-105.

[4] Kim EM, Jeong HJ, Park IK, Cho CS, Kim CG, Bom HS. Hepatocyte-Targeted Nuclear Imaging Using ^{99m}Tc-Galactosylated Chitosan: Conjugation, Targeting, and Biodistribution . *J Nucl Med* 2005; 46(1): 141-5.

[5] Kim EM, Jeong HJ, Kim SL, Sohn MH, Nah JW, Bom HS, et al. Asialoglycoprotein-receptor-targeted hepatocyte imaging using ^{99m}Tc galactosylated chitosan. *Nucl Med Biol* 2006; 33: 529-34.

[6] Kouril J, Vyslouzil J, Kejdusova M, Dvorackova K, Vetchy D. Possibilities of influencing the drug content and encapsulation efficiency of chitosan microspheres prepared by ionic gelation process. *Ceska Slov Farm* 2014; 63(2): 75-83.

[7] Ergun EL, Ercan MT, Selek H, Kas HS, Ruacan S, Unsal IS, et al. Evaluation of ^{99m}Tc labelled poly lactic acid microspheres for diagnostic radioembolization. *J Microencapsul* 2000; 17(4): 509-18.

[8] Hafeli UO, Saatchi K, Elischer P, Misri R, Bokharaei M, Labiris NR, et al. Lung Perfusion Imaging with Monosized Biodegradable Microspheres. *Biomacromolecules* 2010; 11(3): 561–7.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.10.5.4]

The Application of 99mTc-Chitosan Microparticles in Lung Imaging of Mice: A Short Report

S. Rasaneh[1], F. Johari-Daha[2]

Received: 27/07/2014 Sent for Revision: 23/08/2014 Received Revised Manuscript: 20/09/2014 Accepted: 06/10/2014

Background and Objective: In nuclear medicine, lung perfusion scintigraphy is performed by radiolabeled particles, 99 mTc-albumin macroaggregated. Synthesizing of the particles has some difficulties. In order to resolve this problem, chitosan microparticles were used as an alternative choice.

Materials and Methods: The qualitative control tests including: the determining particles size, the labeling efficiency and stability in saline buffer and imaging studies in the mice were performed.

Results: The size of particles was 90-110 micron. The labeling efficiency was 94±3%, the good stability in saline buffer and high accumulation of activity in mice lung were seen.

Conclusion: The results showed that the 99mTc-chitosan microparticles may be considered as a promising radiopharmaceutical of lung perfusion scintigraphy that needs more investigations.

Key words: Chitosan, Lung perfusion scintigraphy, 99mTc-albumin macroaggregated, 99mTc

Funding: This research was not funded by any university or organization.

Conflict of Interest: Not declared.

Ethical approval: This research was performed based on the Ethics Committee of Nuclear science and Technology institute, Helsinki ethic.

How to cite this article: Rasaneh S, Johari-Daha F. The Application of 99mTc-Chitosan Microparticles in Lung Imaging of Mice: A Short Report. *J RafsanjanUniv Med Sci* 2015; 13(10): 1013-18. [Farsi]

1- Assistant Prof., Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran
Corresponding Autor,Tel: Tel: (021) 82063462, Fax:(021) 88221105, E-mail: Samira_rasaneh@hotmail.com
2- Assistant Prof., Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.10.5.4]