

تولید، کنترل کیفی و مطالعات اولیه تصویربرداری با رادیوداروی روییدوم- 82m به منظور مطالعات قلبی به روش نگاره برداری گسیل پوزیترون (PET)

امیررضا جلیلیان، پژمان روشن فرزاد، محسن کیومرثی، مهشید ثابت، محمد میرزایی، نامی شادانپور، علیرضا کریمیان، صدیقه مرادخانی

بخش سیکلوترون و پزشکی هسته‌ای - مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای کرج سازمان انرژی اتمی ایران

چکیده

باتوجه به اهمیت روزافزون رادیوداروهای گسیلنده پوزیترون در جهان و لزوم رویکرد جامعه پزشکان هسته‌ای به کاربرد انواع آنها، رادیوایزوتوپ روییدوم- 82m به عنوان عضو جدیدی از این رادیوداروها تولید شد و پس از تبدیل به فرم قابل تزریق به موجود زنده، اطلاعات مناسبی برای تصویربرداری این رادیودارو حاصل شد. روییدوم- 82m بفرم کلرید با خلوص رادیوایزوتوپی بالا و نیمه عمر ۶/۵ ساعت گسیلنده مناسب پوزیترون برای بررسی کارکرد میوکارد محسوب می‌شود. بر اثر بمباران پروتونی گاز کریپتون- 82 با انرژی ۱۵/۴ مگا الکترون ولت اکتیویته محلول نهایی معادل ۳۵/۰۴ میلی‌کوری (در انتهای بمباران) بدست آمد. در این حالت بهره واکنش هسته‌ای معادل ۶/۳۷ mCi/ μ Ah حاصل شد. محصول بدست آمده در مقایسه با استانداردهای بین المللی دارای خلوص رادیودارویی بالایی است.

واژه های کلیدی: روییدوم- 82m ، کریپتون- 82 ، نگاره برداری با گسیل پوزیترون، کنترل کیفی، خونرسانی میوکارد

مقدمه

روییدوم- 82m با نیمه عمر ۶/۵ ساعت بر اثر رقابت بین دو پدیده گسیل پوزیترون (β^+ : 26%) و گیراندازی الکترون ($E.C=74\%$) و $E_{\beta^+}=0.80$ MeV واپاشی می‌کند. لذا می‌توان آنرا در نگاره برداری به روش گسیل پوزیترون مورد استفاده قرار داد. این رادیوایزوتوپ پس از واپاشی به کریپتون- 82 تبدیل می‌شود که از ایزوتوپهای پایدار کریپتون است. با وجود اینکه از سال ۱۳۷۵ تاکنون ژنراتور کریپتون به مراکز درمانی کشور ارسال می‌شود (۱)، تا جندی قبل هنوز کار تحقیقاتی بر روی فرمهای تزریقی ایزوتوپ مادر آن یعنی روییدوم در کشور صورت نگرفته بود. در مطالعات قلبی در این مرکز ضمن تولید و فرمولاسیون رادیوداروی تزریقی روییدوم- 81 برای اسکن قلب، در این رابطه بررسیهای پیش بالینی نیز بر روی موجودات آزمایشگاهی انجام شد (۲)، از طرفی در ادامه تحقیقات بر روی تولید و کنترل کیفی

رادیوداروهای پوزیترون دهنده در کشور (۳ و ۴)، تولید و بررسی رفتارهای تصویربرداری رادیوایزوتوپ روییدوم- 82m به عنوان گسیلنده مناسب پوزیترون با نیمه عمر مطلوب، مورد توجه قرار گرفت.

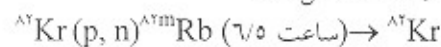
اخیراً انواع روییدوم تزریقی در مراکز کاردیولوژی جهان به منظور بررسی عملکرد بیماریهای اسکمیک قلب (Ischaemic heart disease) و استنوز کرونر (Coronary stenosis) و همچنین تصویربرداری از میوکارد به روش غیر تهاجمی (Noninvasive myocardial imaging) مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۵ و ۶ و ۷)

بدون شک نقش بالینی پوزیترون دهنده‌ها به‌طور روزافزون در حال گسترش است و هرروز از رادیوایزوتوپهای جدید و با روشهای جدیدی در پزشکی هسته‌ای استفاده می‌شود (۸ و ۹). روییدوم- 82m اولین بار در سال ۱۹۸۰ تولید و بعنوان رادیودارویی نوین مطرح شد (۱۰). با وجود این که رادیوایزوتوپ

لایه سیلیکاژل روی پایه آلومینیومی مدل (F 1500/LS 254, 20 × 20 cm, TLC Ready Foils Schleicher & Schuell) و کاغذ واتمن ۲ صورت گرفت. اکتیویته ویژه رادیوایزوتوپ با استفاده از رادیوکروماتوگرافی روی موتور متحرک مجهز به آشکارساز ژرمانیم فوق خالص HPGe مدل (GC1020-7500 SL) محاسبه گردید. کلیه شمارشها با استناد به پیک ۵۱۱ کیلوالکترون ولت مربوط به رویدیوم-۸۲م انجام شد. دوربین مورد استفاده برای تصویربرداری از نوع dual head SPECT ساخت کمپانی SMV مدل DST-XL مجهز به سیستم همزمانی (Co-incidence) بود.

۱- تولید رویدیوم-۸۲م:

در این تحقیق گاز کریپتون-۸۲ با درجه خلوص ایزوتوپی ۳۰ درصد تحت فشار ۲/۷ بار، در محفظه‌ای از جنس فولاد ضد زنگ به شکل مخروط ناقص با ارتفاع ۲۵۱ میلی‌متر محبوس بود و با جریان آب ۱۸°C در لوله‌های مارپیچ اطراف آن خنک می‌شد. این گاز تحت تابش پروتونهای با انرژی ۱۵/۴ مگا الکترون ولت، با جریان پروتونی ۱۰ میکروآمپر و مجموع جریان ۵/۵ میکروآمپر ساعت قرار گرفت. در این حالت فشار گاز هدف به ۳/۶ بار می‌رسید. سپس محفظه هدف با بخار آب داغ شسته و رویدیوم-۸۲م حاصل از بمباران کریپتون به صورت محلول هیدروکسید خارج می‌شد. در انتهای بمباران اکتیویته محلول نهایی ۳۵/۰۴ میلی‌کوری به دست آمد. در این حالت بر اساس واکنش هسته‌ای زیر بهره تولید معادل $637 \text{ (mCi}/\mu\text{Ah)}$ حاصل شد:



دیگر این عنصر، یعنی رویدیوم-۸۲ به عنوان رادیوداروی مناسبی برای بررسیهای قلبی شناخته شده است (۱۱)، رویدیوم-۸۲م بارها به عنوان جانشین آن تولید شده و به کار رفته است زیرا نیمه عمر رویدیوم-۸۲ بسیار کوتاه است (۱/۲۷ دقیقه) و حتی استفاده از ژرمانور $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$ نیز چندان موجب افزایش کاربری آن نمی‌شود (۱۲ و ۱۳).

سلولهای عضلانی قلب در حالت طبیعی و در زمان استراحت به وسیله پمپ فعال Na/K ATPase مرتباً یون پتاسیم را به داخل می‌کشند و سدیم دفع می‌کنند تا عمل انقباضی میوفیبریلی خود را به نحو احسن انجام دهند. سایر فلزات هم گروه پتاسیم مانند رویدیوم در گروه اول جدول تناوبی ضمن تقلید رفتار پتاسیم، به وسیله پمپ مذکور به سلول قلبی وارد می‌شوند. در حالتی غیرطبیعی میزان جذب پتاسیم کاهش می‌یابد ولی در صورت کارکرد صحیح، پراکنش یکنواختی نشان می‌دهد (۱۴). در بررسی سلولهای قلب با رویدیوم-۸۲م به راحتی می‌توان مناطق طبیعی و غیر طبیعی در قلب را مشخص نمود. لذا این روش، ابزار کارآمدی در تشخیص بسیاری از بیماریهای قلبی خواهد بود (۱۵).

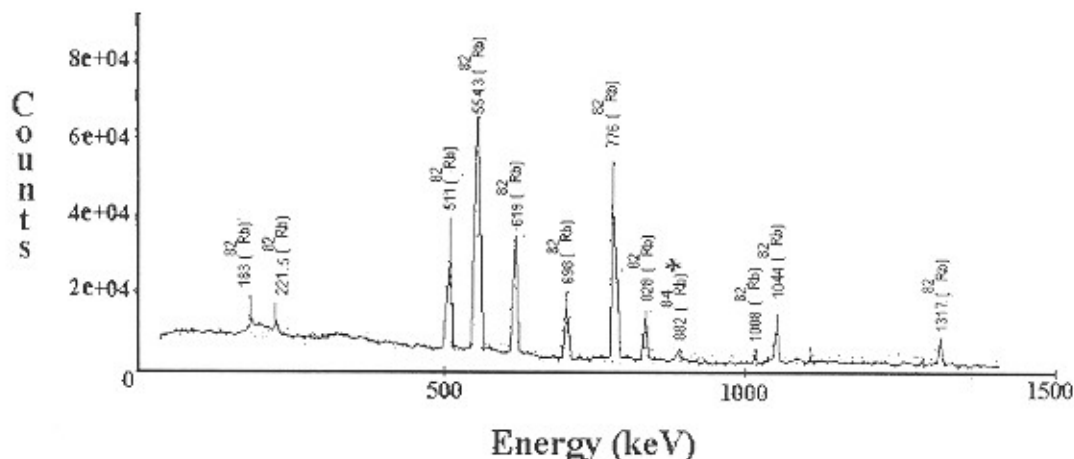
در این پژوهش ضمن فرمول بندی این رادیوایزوتوپ بعنوان رادیودارو، تصاویر اولیه پزشکی هسته‌ای با دوربین SPECT مجهز به سیستم همزمانی (Co-incidence) نیز برای تعیین پارامترهای تصویربرداری گرفته شد. در جدول ۱ اطلاعات فیزیکی مربوط به واپاشی و روشهای تولید رویدیوم-۸۲م درج شده است.

مواد و روشها

کلیه مواد شیمیایی از کمپانی Aldrich تهیه شدند. رادیوکروماتوگرافی روی لایه نازک، با استفاده از

جدول-۱: اطلاعات مربوط به واپاشی و واکنش تولید رویدیوم-۸۲م

انرژیهای گامای شاخص (keV)	پیشینه انرژی β^- (MeV)	مد واپاشی (%)	نیمه عمر (h)	واکنش تولید	رادیوایزوتوپ
۳۷۱(۹۷) و ۵۵۴(۱۷۲/۴) و ۷۷۶(۴۸) و ۷۱۹(۲)	۰/۸۰	E.C (۷۴) و β^+ (۲۶)	۷/۷۲	$^{82}\text{Kr}(p, n)^{82\text{m}}\text{Rb}$	رویدیوم-۸۲م



شکل ۱: طیف پرتوهای گامای نمونه نهایی رادیوداروی (روبییدیوم-۸۲m)

۲- کنترل کیفی محصول :

۲-۱- خلوص رادیونوکلئیدی: برای بررسی خلوص رادیونوکلئیدی از طیف حاصل از آشکارساز ژرمانیم فوق خالص استفاده شد و رادیویکهای شکل ۱ به دست آمد. با توجه به طیف شکل ۱ تنها ناخالصی محصول، روبیدیوم-۸۴ است که بر اثر واکنش ^{84}Rb از $^{84}\text{Kr}(p,n)$ در هدف تولید می‌شود. ایزوتوپ ^{84}Kr از ناخالصیهای هدف به شمار می‌رود. با محاسبه اکتیویته روبیدیوم-۸۲m (محصول) و روبیدیوم-۸۴ (ناخالصی) از طریق محاسبه سطوح زیر پیک، خلوص رادیونوکلئیدی برای محصول اصلی روبیدیوم-۸۲m به میزان ۹۳ درصد به دست آمد که نشان دهنده خلوص و کیفیت بالای محصول است.

۲-۲- خلوص شیمیایی: محلولهای تولید شده ممکن است به دلیل جنس تیتانیوم پنجره هدف (window) و جنس فولادی محفظه بخار آب، دارای

ناخالصیهای فلزی مختلف رادیواکتیو و یا غیررادیواکتیو باشند. لذا باید پس از در نظر گرفتن واکنشهای هسته‌ای ممکن، به کاوش مقادیر این عناصر در محلول نهایی اقدام شود. با توجه به تماس محلول رادیودارو با تیتانیوم و آهن قطعات هدف و پنجره آن، وجود مقادیر کم عناصر آهن و تیتانیوم با استفاده از روشهای رنگ سنجی به طور دقیق مورد بررسی قرار گرفت. در نتیجه محصول نهایی فاقد عناصر فلزی فوق الذکر تشخیص داده شد. آزمایشهای رنگ سنجی به منظور کاوش یونهای احتمالی موجود در محلول نهایی در جدول ۲ درج شده است.

۲-۳- خلوص رادیوشیمیایی: در نتیجه شستشوی روبیدیوم-۸۲m فلزی از دیواره‌های هدف، به دلیل واکنش شدید عناصر گروه اول با آب، بی‌نریدید مهم‌ترین گونه شیمیایی حاصل، RbOH است. لذا محلول حاصل از تولید، به روش کروماتوگرافی روی

جدول ۲: آزمایشهای رنگ سنجی به منظور کاوش یونهای احتمالی موجود در محلول نهایی

یون	معرف	رنگ	حداکثر مجاز اروپا (ppm)	حداکثر مجاز ایالات متحده (ppm)	حداکثر دقت عملی (ppm)
آهن (۱۶)	۲و۲-دی پیریدیل	صورتی	۵	۵	۴
تیتانیوم (۱۸و۱۷)	کروموتروپات سدیم	زرد	۱۰	۵	۱/۵

مشخص شد که احتمال وجود رادیونوکلیدهای مزاحم ناشی از واکنش پروتون با دیواره هدف متفی است.

۴- فرمول بندی محلول رادیودارویی رویدیوم - ۸۲m:

برای تبدیل محلول حاصل به فرم دارویی قابل تزریق، مراحل زیر به ترتیب انجام شد:

۴-۱- ایزوسموتیک شدن: به منظور اطمینان از زیست سازگاری محلول نهایی تزریقی به موجود زنده و تطابق فشار اسمزی آن با گلبولهای خون، محلول حاصل از بمباران هدف، به وسیله جریان آهسته گاز ازت و حرارت ملایم خشک شد و سپس به ازا هر میلی کوری اکتیویته رویدیوم - ۸۲m اندازه گیری شده به وسیله کالیبراتور دوز، ۰/۵ میلی لیتر محلول استریل نرمال سالین به ویال افزوده و مخلوط شد تا یکنواخت شود.

کاغذ واتمن یا حلال نرمال سالین (به عنوان فاز متحرک) مورد بررسی قرار گرفت. پس از پایان کروماتوگرافی، کاغذ در دمای اتاق خشک شد و به وسیله سیستم طیف سنج گاما بر اساس پیک ۵۱۱ کیلو الکترون ولت مورد شمارش قرار گرفت. خلوص رادیوشیمیایی به فرم رادیویک RbOH در حدود ۰/۸ R_f به دست آمد که مطابق استاندارد دارونامه‌های رسمی است (۱۹).

۳- احتمال تولید سایر رادیونوکلیدها:

به دلیل برخورد پرتابه پروتون با قطعات هدف (که از جنس آهن و تیتانیوم است) و احتمال رویکرد واکنشهای هسته‌ای مزاحم، ممکن است ناخالصیهای رادیوایزوتوپی حاصل شوند که مهمترین این واکنشها در جدولهای ۳ و ۴ به ترتیب برای آهن و تیتانیوم فهرست شده‌اند:

با بررسی دقیق طیف شکل ۱ حاصل از آشکارساز HPGe و مقایسه آن با انرژیهای گامای جدولهای ۳ و ۴

جدول ۳: مشخصات و ویژگیهای هسته‌های پرتوهای حاصل از واکنش پروتون با آهن

انرژی گامای گسیلی (keV)	واکنش هسته‌ای مربوطه	نیمه عمر	هسته پرتوزا
۱۴۰۹-۴۷۷-۹۳۱	$Fe(p,\gamma)^{61}$	۱۷/۵۴(h)	^{60}Co
۱۲۳۸-۸۴۷	$^{61}Fe(p,n) - ^{61}Fe(p,2n)$	۷۷/۲۶(d)	^{61}Co
۱۳۶-۱۲۲	$^{61}Fe(p,\gamma) - ^{61}Fe(p,n) - ^{61}Fe(p,2n)$	۲۷۱/۷۹(d)	^{67}Co
۸۱۱	$Fe(p,n)^{60} - Fe(p,\gamma)^{60}$	۷۰/۸۶(d)	^{60}Co
۷۴۹	$Fe(p,\alpha)^{61}$	۴۶/۲(m)	^{61}Mn
۸۳۵	$Fe(p,\alpha)^{67}$	۳۱۲/۲(d)	^{65}Mn
۸۴۷	$Fe(p,2p)^{67}$	۲/۵۸(h)	^{61}Mn

جدول ۴: مشخصات و ویژگیهای هسته‌های پرتوهای حاصل از واکنش پروتون با تیتانیوم (۲۰)

انرژی گامای گسیلی (keV)	واکنش هسته‌ای مربوطه	نیمه عمر	هسته پرتوزا
۱۳۱۲-۹۸۳/۵	$^{47}Ti(p,\gamma) - ^{48}Ti(p,n) - ^{49}Ti(p,2n) - ^{50}Ti(p,3n)$	۲۸۳/۴۲۴(h)	^{46}V
۱۵۹/۴	$^{48}Ti(p,2p)$	۸۰/۱۸۴(h)	^{47}Sc
۲۷۱/۲	$^{47}Ti(p,\alpha)$	۵۸/۶۰۸(h)	^{43m}Sc
۳۷۳	$^{47}Ti(p,\alpha)$	۳/۸۹۱(h)	^{47}Sc

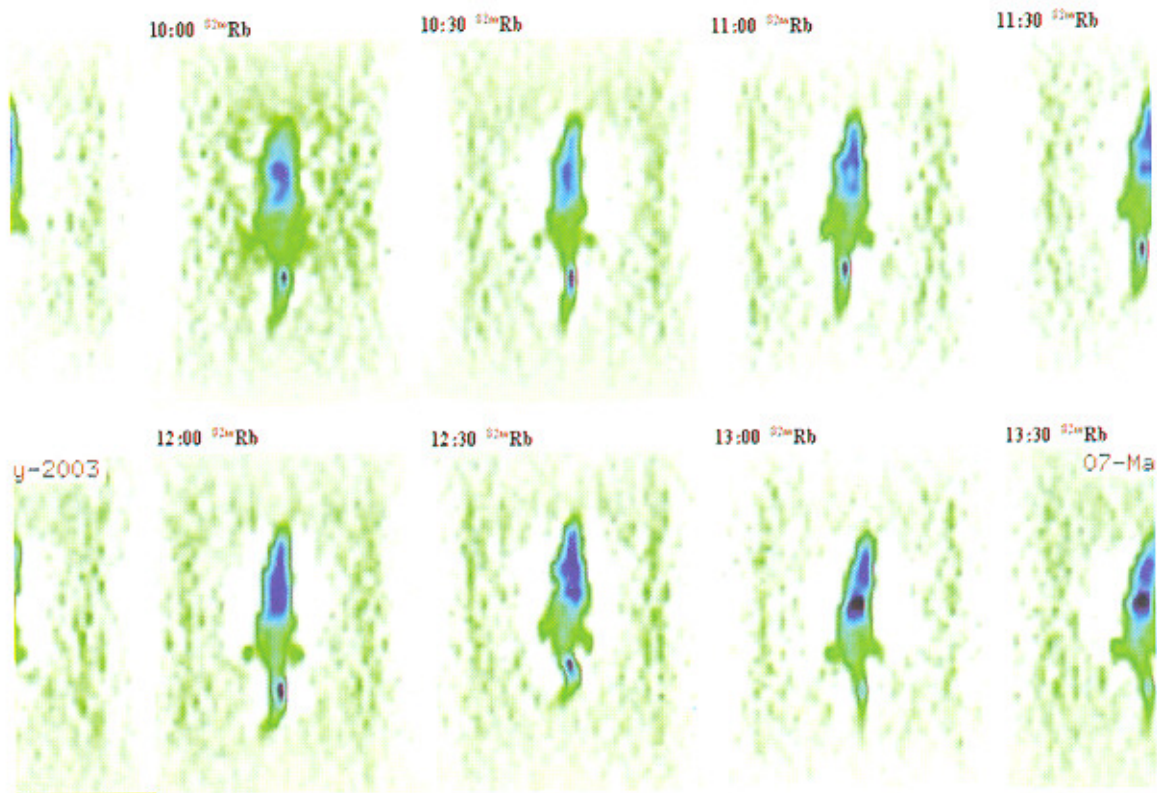
ب) فرمول‌بندی رادیوداروی روییدیموم- 82m (ج) بررسی توزیع روییدیموم- 82m به روش تصویربرداری در موش صحرایی،
تصاویر اولیه SPECT به دست آمده پس از تزریق ۳۰۰ میکروکوری روییدیموم- 82m به موشهای صحرایی سالم جالب توجه است. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، در ۳۰ دقیقه اولیه اکتیویته تقریباً در سراسر اندامها پراکنده است. با توجه به حالیت و عدم اتصال پروتئینی یونهای یک ظرفیتی مانند روییدیموم، پراکنش ایزوتوپ و مقدار آن در خون بلافاصله بالا رفته و اکتیویته در سراسر بدن پراکنده می‌شود. این امر به خصوص در قفسه سینه شامل ریه‌ها و قلب و احتمالاً در کبد شاخص است. در ساعاتی بعد اکتیویته در قفسه سینه و سر و گردن به تدریج کاهش می‌یابد ولی در قلب رو به افزایش و تثبیت می‌گذارد. با دقت در شکل ۲ می‌توان دریافت که اکتیویته از ناحیه سر و سد مغزی-خونی عبور کرده است که نشان می‌دهد جذب رادیویزوتوپ از انتشار ساده پیروی نمی‌کند. ۳ ساعت پس از تزریق، اکتیویته به صورت کاملاً بارز در قلب بالا می‌رود. به نظر می‌رسد علت این امر، به دام افتادن روییدیموم در پمپ سدیم/پتاسیم باشد. با توجه به وجود تعداد زیادی از این پمپ در بافت عضلانی قلب، ۳/۵ ساعت پس از تزریق، اکتیویته در این بافت به بیشینه خود می‌رسد و سپس کاهش می‌یابد. بهینه‌سازی دوز تزریق رادیودارو و آزمون رادیودارو بر روی مدل‌های حیوانی مبتلا به بیماری قلبی و جراحی مصنوعی به عنوان مطالعات بعدی پیشنهاد می‌شود. ضمناً مقایسه این رادیودارو با سایر رادیوداروهای قلبی مورد استفاده در SPECT مانند تالیوم-۲۰۱ و $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ و یا رادیوداروهای آزمایشی مثل $^{131}\text{I-IPPA}$ در حیوانات آزمایشگاهی و مدل‌های احتمالی دیگر نیز باید انجام شود و مزایا و مضرات هر یک به دقت بررسی شود.

۴-۲-اسیدیته : در صورتی که اسیدیته محلول در گستره دقیق اسیدیته بین ۴-۷ نبود، با افزودن مقادیر ناچیز اسیدکلریدریک ۰/۰۱ نرمال تنظیم می‌شود.
۴-۳-استریل کردن : به منظور دستیابی به بالاترین حد اطمینان از عاری بودن محصول نهایی از میکروارگانیسمها، فارمها و پیکره آنها (پیروژن) به این ترتیب عمل شد:
الف) عبور از صافی ضد میکروبی: حجم ۰/۵ تا ۱ میلی لیتر از محلول فوق در یک سرنگ استریل ۲ میلی لیتری از درون صافی ۰/۲۲ میکرون Cathivex ساخت کمپانی Waters زیر هود لامینار عبور داده شد و بلافاصله به ویال استریل انتقال داده شد.
ب) اتوکلاو کردن : ویال استریل سر بسته در شرایط اتوکلاو قرار گرفت.
۴-۴- کنترل میکروبی - قارچی : این مرحله برای حصول اطمینان از عدم وجود گونه‌های ارگانیزمی محصول در محیطهای کشت استریل در کنار شاهد‌های مثبت و منفی انجام و رشد یا عدم رشد کلونی در محیطها تا یک ماه بررسی شد.
۴-۵- تست پیروژن: این مرحله برای حصول اطمینان از عدم تب‌زایی محصول به وسیله کیت‌های تجاری LAL انجام شد.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به کاربرد روییدیموم- 82m بعنوان یک رادیوداروی PET در بررسیهای کمی و کیفی کارکرد اندامهای بدن و استقبال متخصصین از خرید و به کارگیری دوربینهای PET، این رادیودارو را می‌توان مورد مناسبی برای تحقیقات رادیودارویی و پزشکی هسته‌ای دانست.
به‌طور کلی این تحقیق را می‌توان به چند مرحله تقسیم نمود:

الف) تولید رادیویزوتوپ روییدیموم- 82m



شکل ۲: نمایی از اسکن همزمانی (Co-incidence) اولیه تمام بدن در یک موش صحرایی پس از تزریق ^{81}Rb میکروکوری مملول رادیوداروی استرل ریبیدیوم- ^{81}Rb . پس از $3/5$ ساعت اکتیویته بیشینه در نامیه وسط قفسه سینه یعنی قلب مشاهده می‌شود.

منابع

- 1) Aboudzadeh M Selection of the proper nuclear reaction for the production of Kr-81m. Scientific Bull. IAEA, 1998; 17: 41-43.
- 2) Jalilian A.R, Production of Rb-81 in Iran, Iran. J. Med. Phys. In press.
- 3) Jalilian A.R, Afarideh H, Akbari. B. Synthesis & quality control of ^{18}F FDG, a new radioligand in Iran, Iran. J. Nucl. Med., summer 1998.
- 4) Jalilian A.R, Fateh B, Preparation, Distribution, Stability and Tumor Imaging Properties of ^{67}Zn Bleomycin in Normal and Tumor-bearing Mice, Iran. J. Radiat. Res. 2003;1:37-44.
- 5) Shea M.J, Wilson R.A, Use of short and long-lived rubidium Traces for the study of Transient ischemia. J. Nucl. Med. 1987; 28: 989-997.
- 6) Stoll H.P, Huwer H, Experimental validation of a new coronary guide wire labeled with rubidium 81/krypton 81m for continuous assessment of myocardial blood flow. J. Nucl. Cardiol. 2000; 7(3): 255-262.
- 7) Cherry S.R, Carnochan P, Quantitative in vivo measurements of tumor perfusion using rubidium-81 and positron emission tomography. J. Nucl. Med. 1990; 31(8):1307-1315.

- 8) Pirich C, Schwaiger M. The clinical role of positron emission tomography in management of the cardiac patient. Rev. Port. Cardiol. Feb. 2000; 19, Suppl 1: 89-100
- 9) Vom Dahl. J. Assessing myocardial perfusion with positron emission tomography. Z Kardiol. Nov. 2001; 90(11):835-47
- 10) Lambrecht R.M, Gallagher B.M, Cyclotron isotopes and radiopharmaceuticals--XXIX. $^{81,82m}\text{Rb}$ for positron emission tomography. Int. J. Appl. Radiat. Isot. Jun.1980; 31(6):2836-42
- 11) Marwick T.H, Shan K, Incremental value of rubidium-82 positron emission tomography for prognostic assessment of known or suspected coronary artery disease. Am. J. Cardiol. Oct.1997 ;80(7): 865-70
- 12) Murata K. Usefulness and limitations of myocardial scintigraphy at present. J. Cardiol. Jun.1989 ;19(2): 593-7
- 13) Kovacs , Tarkanyi F, Production of 6.5 h ^{82m}Rb via the $^{82}\text{Kr}(p, n)$ -process at a low-energy cyclotron-a potential substitute for ^{82}Rb . Appl. Instrum [A]. 1991; 42(9): 831-4.
- 14) McGowan R.L, Welch T.G, Non-invasive myocardial imaging with potassium-43 and rubidium-81 in patients with left bundle branch block. Am. J. Cardiol. 1976; 38(4):422-428.
- 15) Botsch H, Beringer K, Single-photon emission tomography studies of rubidium-81 in the detection of ischaemic heart disease, using a stress-reinjection protocol. Eur. J. Nucl. Med. 1994; 21(5): 407-414.
- 16) United States Pharmacopoeia, No. 23, official monographs , 1520 (2).
- 17) Vogel A.I. A textbook of macro and semimicro qualitative inorganic analysis. 4th ed. Longman, 1976 : 598-600.
- 18) United States Pharmacopoeia, No. 23, official monographs, 1090 (1).
- 19) United States Pharmacopoeia, No. 23, official monographs, 1091 (2).
- 20) Kopecky .P, Szelecsenyi F, et al. Excitation Functions of (p, xn) Reaction on ^{48}Ti : Monitoring of Bombarding Proton Beams. Int. J. Appl. Radiat. Isot. 1993; 44(4): 687 -692.