

Effect of Temperature and Reducing Agent on Labeling of Magnetosomes with ^{188}Re and Biodistribution of Labeled Magnetic Nanoparticles

Aghamiri S.M.R.¹ *PhD*, Akbari-Karadeh S.¹ *MSc*, Tajer Mohammad Ghazvini P.* *PhD*, Ghorbanzadeh Mashkani S.² *MSc*

*Materials & Nuclear Fuel Research School, Nuclear Science & Technology Research Institute, Tehran, Iran

¹Medical Radiation Department, Nuclear Engineering Faculty, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

²Nuclear Science & Technology Research Institute, Tehran, Iran

Abstract

Aims: In recent years, magnetotactic bacteria and their magnetic nanoparticles (magnetosomes) were considered in different fields of science, including medicine, biotechnology, and nanobiotechnology due to their novel and unique magnetic properties. The present study was performed with the aim of evaluating the effect of temperature and reducing agent on labeling of magnetosomes with ^{188}Re and biodistribution of labeled magnetic nanoparticles.

Materials & Methods: In this experimental study, *Alphaproteobacterium* MTB-KTN90 and sonication extraction method were used for the extraction of magnetic nanoparticles. After bacterial lysis, the magnetic nanoparticles produced by electron microscope were investigated and tin (II) chloride, as reducing agent, was used to check the labeling efficiency and rats were used to examine the biodistribution of the labeled magnetosomes.

Findings: The highest efficiency in magnetosome labeling experiments was 11100kBq in the initial activity, which decreased with increasing activity. The increase in temperature did not have much effect on increasing the labeling efficiency. The labeling value in the absence of a reducing agent was 721.5kBq, while at a concentration of 2mg of this agent, the labeling value increased to 10745.91kBq. After the injection of magnetosomes through the sublingual vein of the rat, the magnetosomes accumulated in the liver.

Conclusion: Magnetosomes extracted from *Alphaproteobacterium* MTB-KTN90 have a high potential for labeling by ^{188}Re . Increasing temperature does not affect the labeling efficiency, but tin (II) chloride is a very important factor in optimizing the labeling efficiency, and the highest accumulation of magnetosomes labeled with ^{188}Re after injection is in the liver of the rat.

Keywords

Magnetotactic bacteria [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68055944>];

Targeted drug delivery [Not in MeSH];

^{188}Re Radioisotope [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/2023979>];

Magnetosome [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68055944>]

*Corresponding Author

Tel: +98 (21) 88221117

Fax: +98 (21) 88221116

Post Address: Materials & Nuclear Fuel Research School, Nuclear Science & Technology Research Institute, North Karegar Street, Tehran, Iran

ptajer@aeoi.org.ir

Received: August 21, 2016

Accepted: April 10, 2017

ePublished: June 21, 2018

تاثیر دما و ماده احیاکننده بر نشاندارسازی مگنتوزوم‌ها با رنیوم-۱۸۸ و توزیع زیستی نانوذرات مغناطیسی نشاندارشده

سید محمودرضا آقامیری PhD

گروه پرتو پزشکی، دانشکده مهندسی هسته‌ای، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

سمیه اکبری کزاده MSc

گروه پرتو پزشکی، دانشکده مهندسی هسته‌ای، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

پرینسا تاجر محمدقزوینی PhD*

پژوهشکده مواد و سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران

سعید قربانزاده مشکانی MSc

پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران

چکیده

اهداف: در سال‌های اخیر باکتری‌های مگنتوتاکتیک و نانوذرات مغناطیسی آنها (مگنتوزوم‌ها) به دلیل داشتن خاصیت مغناطیسی بدیع و منحصر به فردشان در زمینه‌های مختلف علوم از جمله پزشکی، بیوتکنولوژی و نانوبیوتکنولوژی مورد توجه قرار گرفته‌اند. هدف این پژوهش، بررسی تاثیر دما و ماده احیاکننده بر نشاندارسازی مگنتوزوم‌ها با ^{188}Re و توزیع زیستی نانوذرات مغناطیسی نشاندارشده بود.

مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر از باکتری مگنتوتاکتیک *آلفاپروتئوباکتریوم MTB-KTN90* و روش استخراج ترکیبی سونیکیشن برای استخراج نانوذرات مغناطیسی استفاده شد. پس از لیز سلول باکتریایی، نانوذرات مغناطیسی تولیدشده توسط میکروسکوپ الکترونی، بررسی و از عامل احیاکننده کلرید قلع (II) برای بررسی بازده نشاندارسازی و از موش‌های صحرایی برای بررسی توزیع زیستی مگنتوزوم‌های نشاندارشده استفاده شد.

یافته‌ها: بیشترین بازده در آزمایشات نشاندارسازی مگنتوزوم‌ها در اکتیویته اولیه ۱۱۱۰۰ کیلو بکرل بود که بازده با افزایش اکتیویته، کاهش یافت. افزایش دما تاثیر چندانی روی افزایش بازده نشاندارسازی نداشت. مقدار نشاندارسازی در نبود ماده احیاکننده برابر با ۲۲۱/۵ کیلو بکرل بود، در حالی که در غلظت ۵ میلی‌گرم از این ماده مقدار نشاندارسازی به ۱۰۷۴۵/۹۱ کیلو بکرل افزایش پیدا کرد. پس از تزریق مگنتوزوم‌ها از طریق ورید زیربانی موش، مگنتوزوم‌ها در کبد تجمع یافتند.

نتیجه‌گیری: مگنتوزوم‌های استخراج شده از باکتری مگنتوتاکتیک *آلفاپروتئوباکتریوم MTB-KTN90* قابلیت بالایی برای نشاندارسازی توسط ^{188}Re دارند. افزایش دما روی بازده نشاندارسازی تاثیر ندارد، ولی ماده احیاکننده کلرید قلع (II) یک فاکتور بسیار مهم در بهینه‌سازی بازده نشاندارسازی است و بیشترین تجمع مگنتوزوم‌های نشاندارشده با ^{188}Re پس از تزریق، در کبد موش وجود دارد.

کلیدواژه‌ها: باکتری مگنتوتاکتیک، دارورسانی هدفمند، رادیوایزوتوپ ^{188}Re ، مگنتوزوم

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۱/۲۱

* نویسنده مسئول: ptajer@aeoi.org.ir

مقدمه

یکی از مهم‌ترین و پیشرفته‌ترین زمینه‌های تحقیقاتی در نانوتکنولوژی، تولید نانوذرات و کاربرد آنها در زمینه‌های مختلف علوم از جمله پزشکی است. اخیراً نانوذرات مغناطیسی سنتز شده به وسیله باکتری‌های مگنتوتاکتیک (مگنتوزوم‌ها) با توجه به ویژگی‌های منحصر به فردشان به عنوان جایگزین مناسب برای حامل‌های دارویی هدفمند مورد توجه قرار گرفته‌اند [1]. باکتری‌های مگنتوتاکتیک به عنوان باکتری‌های تولیدکننده نانوذرات مغناطیسی درون سلولی در ساختارهایی به نام مگنتوزوم‌ها

هستند [2-4]. مگنتوزوم‌های تولید شده در باکتری‌های مگنتوتاکتیک به عنوان نانومواد مغناطیسی جدیدی شناخته شده‌اند که به وسیله فرآیندهای معدنی‌سازی زیستی با کنترل دقیق روی ترکیبات شیمیایی، مورفولوژی و اندازه تولید می‌شوند. خصوصیات مغناطیسی عالی نانوکریستال‌های باکتری‌های مگنتوتاکتیک، ویژگی‌های کریستالی فوق‌العاده، سازگاری فیزیولوژی ذاتی آنها، حضور غشاهای آلی اطراف آنها و غیره باعث شده است که این نانوذرات مغناطیسی باکتریایی نسبت به نانوذرات تولید شده با روش مصنوعی ترجیح داده شوند [5, 6]. نانوذرات مغناطیسی باکتریایی دارای امکان به کارگیری در زمینه‌های مختلفی از جمله محیطی، پزشکی، بیوتکنولوژی، نانوبیوتکنولوژی و غیره هستند. امروزه محققان نشان داده‌اند که مگنتوزوم‌ها در زمینه‌های کاربردی مختلف از جمله ساخت حسگرهای زیستی برای تشخیص محیط‌های آلوده، هورمون‌ها و مواد سمی و همچنین در زمینه‌های جداسازی مغناطیسی اختصاصی سلول‌ها، ساخت حامل‌های دارو و ژن در درمان‌های هدفمند و تشخیص بیماری‌ها، درمان‌های هایپرترمیا (گرما درمانی)، تصویرسازی تشدید مغناطیسی (MRI)، ساخت نانولوله‌های مغناطیسی، تثبیت آزیم‌ها و غیره دارای پتانسیل بسیار خوبی هستند [15-16].

پرتودرمانی نقش حیاتی در درمان سرطان‌ها دارد. رادیوداروها، ترکیبات رادیواکتیوی هستند که بر حسب نیاز در تشخیص و درمان سرطان استفاده می‌شوند [16]. در پزشکی هسته‌ای، ۹۵٪ رادیوداروها برای مقاصد تشخیصی و بقیه برای عملیات درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. رادیوداروها نیز همانند داروهای معمولی از توالی جذب، توزیع، متابولیسم و دفع (ADME) پیروی می‌کنند [17, 18]. اگر چه بسیاری از رادیوایزوتوپ‌ها می‌توانند به عنوان منابع تابشی استفاده شوند، اما تنها تعداد کمی از آنها برای مطالعات درون بدن توسعه یافته‌اند [19]. امروزه رنیوم-۱۸۸ (^{188}Re) و رنیوم-۱۸۸ (^{188}Re) به عنوان رادیونوکلئیدهای مهم با قابلیت درمانی شناخته شده‌اند. در دسترس بودن هر دو رادیونوکلئید ^{188}Re و ^{186}Re باعث ایجاد انعطاف پذیری آنها در طراحی معرف‌های نشاندارشده با مواد رادیواکتیو می‌شود، به طوری که منجر به سازگاری کاربردهای مختلف در بدن موجود زنده و سینتیک دارویی می‌شود. اما از آنجایی که ^{188}Re دارای انرژی ذرات بتای بالاتر و نیمه عمر کوتاه‌تر (۱۷ ساعت) است و همچنین امکان پاکسازی سریع‌تر از خون و سایر بافت‌های غیرهدف وجود دارد، معمولاً برای تهیه رادیوداروهایی با هدف تومورهای بزرگ‌تر مورد استفاده قرار می‌گیرد [20]. در این تحقیق استخراج نانوذرات مغناطیسی تولید شده توسط باکتری مگنتوتاکتیک *آلفاپروتئوباکتریوم MTB-KTN90* (*Alphaproteobacterium MTB-KTN90*) [4, 15] و نشاندارسازی آنها با رادیوایزوتوپ ^{188}Re انجام شد. بر اساس مطالب ذکر شده، هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر دما و ماده احیاکننده بر نشاندارسازی مگنتوزوم‌ها با ^{188}Re و توزیع زیستی نانوذرات مغناطیسی نشاندارشده بود.

مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر، باکتری مورد استفاده، باکتری مگنتوتاکتیک *آلفاپروتئوباکتریوم MTB-KTN90* بود که در سال ۱۳۹۰ به طور موفقیت آمیزی در محیط جداسازی نیمه جامد شیب‌دار اکسیژن- سولفید اصلاح شده از تالاب انزلی جدا شده بود. توالی جدید ژن RNA ریبوزومی 16S (*rRNA*) 16S باکتری مذکور قبلاً

تأثیر دما و ماده احیاکننده بر نشاندارسازی مگنتوزوم‌ها با رنیوم-۱۸۸ و توزیع زیستی... ۱۸۱
تابش اشعه به محیط جلوگیری شود. سپس ویال‌ها در دمای محیط و ۹۵°C قرار گرفتند و در انتها نانوذرات مغناطیسی به صورت جذب مغناطیسی از مایع رویی، جدا و مایع رویی برای سنجش اکتیویته خارج شد.

بررسی اثر ماده احیاکننده روی نشاندارسازی مگنتوزوم‌ها: عامل احیاکننده کلرید قلع (II) یک عامل مهم تاثیرگذار روی بازده نشاندارسازی است. برای بررسی اثر این عامل ۱۰۰ میکرولیتر محلول حاوی کلرید (II) قلع با غلظت صفر تا ۴ میلی‌گرم به ۵۰ میکرولیتر از محلول مگنتوزوم (۴۰ میلی‌گرم مگنتوزوم) درون ویال‌ها و سپس به ویال‌ها ۱۵۰ میکرولیتر پرنات ¹⁸⁸Re رادیواکتیو (از ژنراتور mci 100 ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re) اضافه شد. ویال‌ها در آزمایشگاه درون شیلد سربی قرار گرفتند تا از تابش اشعه به محیط جلوگیری شود. در پایان آزمایشات نانوذرات مغناطیسی به صورت جذب مغناطیسی از مایع رویی جدا شدند و مایع رویی برای سنجش اکتیویته خارج شد.

توزیع زیستی مگنتوزوم‌های نشاندارشده: برای بررسی توزیع زیستی مگنتوزوم‌های نشاندارشده از موش‌های صحرایی به وزن تقریبی ۱۵۰ تا ۱۸۰ گرم استفاده شد. طبق استاندارد برای رادیوداروی رنیوم برای هر کیلوگرم بدن ۱-۵/۰ میلی‌کوری رادیودارو تزریق شد^[20]. سپس موش‌ها در مدت زمان ۴، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق تشریح شدند و اعضای بدن آنها توسط دستگاه شمارنده گاما مورد شمارش قرار گرفت.

میزان فعالیت تجمع‌یافته در هر اندام با عامل درصد دوز تزریقی بر حسب گرم بافت (ID/g%) بیان می‌شود. این عامل بیانگر این حقیقت است که چه درصدی از اکتیویته کل در هر گرم از عضو مورد نظر تجمع یافته است که از طریق فرمول زیر به دست می‌آید^[25]:

$$ID/g\% = \frac{\text{تعداد شمارش‌های عضو مورد نظر}}{\text{تعداد شمارش‌های نمونه شاهد}} \times 100$$

وزن عضو مورد نظر

محاسبه بازده نشاندارسازی: بازده نشاندارسازی عبارت از نسبت فعالیت اکتیویته بعد از شست‌وشو به فعالیت اکتیویته کل در شروع آزمایشات است. بنابراین بازده نشاندارسازی ۱۰۰٪ به این معنی است که هیچ فعالیت اکتیویته‌ای از نانوذرات مغناطیسی شسته نشود. بازده نشاندارسازی و پایداری پرنات ¹⁸⁸Re با نانوذرات مغناطیسی مگنتوزوم طبق فرمول زیر محاسبه شد. به این ترتیب که در آزمایشات، نانوذرات مغناطیسی به صورت جذب مغناطیسی از مایع رویی، جدا و مایع رویی برای سنجش اکتیویته خارج شد^[26]:

$$= \text{بازده نشاندارسازی (درصد)}$$

$$100 - \left[\frac{Ex(Bq) - Ey(Bq)}{Ex(Bq)} \right] \times 100\%$$

Ex: مقدار اندازه‌گیری (mCi) بدون استفاده از روش جذب مغناطیسی
Ey: مقدار اندازه‌گیری (mCi) با روش جذب مغناطیسی

یافته‌ها

در بررسی نانوذرات مغناطیسی استخراج‌شده از باکتری *آلفاپروتئوباکتریوم MTB-KTN90*، نانوذرات با توزیع اندازه یکنواخت با میانگین کریستال‌هایی برابر با ۶۰-۵۰ نانومتر در هر سلول بودند که با یک غشای نازک طبیعی پوشیده شده بودند (شکل ۱).

در پایگاه اطلاعاتی GenBank در مرکز ملی اطلاعات زیست‌فناوری (NCBI) تحت عدد دسترسی توالی نوکلئوتیدی KF623694 نیز ثبت شده است^[4, 15].

شرایط رشد باکتری مگنتوتاکتیک آلفاپروتئوباکتریوم MTB-KTN90: باکتری مورد نظر در محیط اصلاح‌شده مایع (MLM) کشت داده شد. محیط اصلاح‌شده مایع متشکل از ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، یک میلی‌لیتر محلول ویتامین ولف، ۲ میلی‌لیتر محلول معدنی ولف، ۵/۰ گرم سوکسینات سدیم، ۱/۰ گرم عصاره مخمر، ۱/۰ گرم منیزیم سولفات هپتاهیدرات (MgSO₄ 7H₂O)، یک گرم پپتون، یک میلی‌مولار بافر فسفات (با pH برابر با ۷)، ۱/۰ گرم کلرید آمونیوم (NH₄Cl)، ۳۳۳/۳۵ میلی‌گرم سدیم استات بدون آب، ۲ میلی‌گرم رزازورین، ۱۰۰ میکرومولار فریک سیترات، ۲/۰ گرم سیستئین هیدروکلراید (Cysteine-HCl) خنثی‌شده بود. رشد باکتری مگنتوتاکتیک مورد نظر در محیط‌های مایع به صورت میکروآنروبی با غلظت ۲٪ اکسیژن و ۹۸٪ نیتروژن (N₂) درون بطری‌های سرمی و آزمایشگاهی با درب غیرقابل نفوذ هوا همراه با سیستم گازدهی در دمای ۲۹°C انجام گرفت^[4, 15, 21].

استخراج و خالص‌سازی نانوذرات مغناطیسی از باکتری مگنتوتاکتیک و مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره نانوذرات (SEM): سلول‌های باکتری پس از کشت باکتری در محیط مایع MLM توسط سانتریفیوژ با ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در ۴°C جدا شدند. روش استخراج ترکیبی سونیکیشن برای استخراج نانوذرات مغناطیسی از باکتری مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا سلول‌های باکتری در بافر ۲۰ میلی‌مولار هیدروکسیل‌اتیل‌پیرازین اتان‌سولفونیک اسید (HEPES) و ۴ میلی‌مولار ایتیل‌دی‌آمین‌تترااستیک اسید (EDTA) در pH برابر با ۷/۴، سوپانسیون و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۳۰ وات اولتراسونیک شدند. نهایتاً برای به‌دست‌آوردن مگنتوزوم‌های جدا از یکدیگر، سلول‌ها در ۱٪ سدیم دودسیل سولفات (SDS) به مدت یک ساعت جوشانده شدند. پس از لیز سلولی، نانوذرات مغناطیسی باکتریایی حاصل از لیز سلولی با روش جداسازی مغناطیسی معمول با استفاده از یک مگنت از باقیمانده‌های سلولی غیرمغناطیسی جدا شدند. سپس این نانوذرات مغناطیسی در بافر مناسب، سوپانسیون و چند مرتبه روش خالص‌سازی مغناطیسی تکرار شد تا از خلوص مگنتوزوم‌ها اطمینان حاصل شود^[22-24].

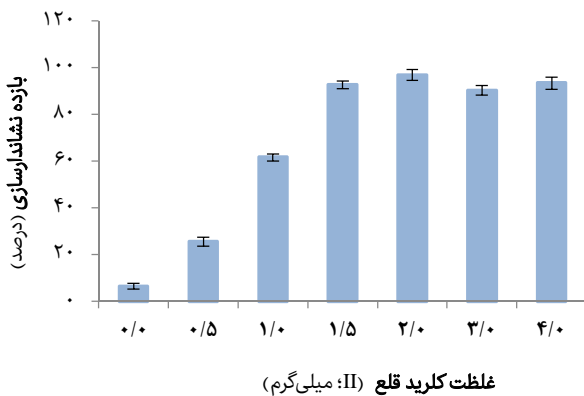
برای بررسی نانوذرات مغناطیسی باکتریایی از میکروسکوپ الکترونی نگاره مدل Zeiss EVO 18 Special Edition (Microscopy؛ آلمان) استفاده شد. در این روش ابتدا نانوذرات استخراج‌شده روی سطح یک نوار کربنی قرار داده شده و در مجاورت هوا خشک شدند. سپس پوششی از طلا روی نمونه‌ها توسط دستگاه پوشاننده یونی KIC-IA (COXEM؛ کره جنوبی) نشانده شد. در انتها نمونه‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی تأثیر دما و مقدار اکتیویته بر نشاندارسازی نانوذرات مغناطیسی: به‌منظور بررسی اثر همزمان دما و مقدار اکتیویته، ۵۰ میکرولیتر از محلول مگنتوزوم (۴۰ میلی‌گرم مگنتوزوم) درون ویال‌های ۱/۹ میلی‌لیتر درپوش‌دار پلی‌اتیلنی و سپس به آن ۱۰۰ میکرولیتر محلول حاوی کلرید قلع (SnCl₂;II) اضافه شد. سپس به ویال‌ها ۱۵۰ میکرولیتر پرنات ¹⁸⁸Re رادیواکتیو با اکتیویته بین صفر تا ۱۴۵۲۹۹ کیلوپیکرل اضافه شد که ژنراتور ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re 100mci (پارس ایزوتوپ؛ ایران) مورد استفاده قرار گرفت. ویال‌ها در آزمایشگاه درون شیلد سربی قرار گرفتند تا از

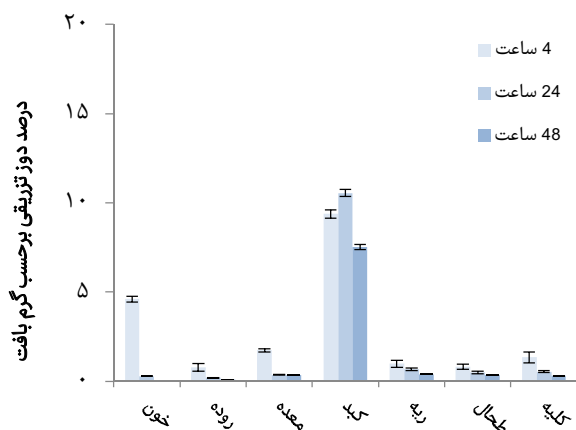
بیشترین بازده در آزمایشات نشاندارسازی مگنتوزومها در اکتیویته اولیه ۱۱۰۰ کیلو بکرل بود که بازده با افزایش اکتیویته، کاهش یافت. افزایش دما تاثیر چندانی روی افزایش بازده نشاندارسازی نداشت (نمودارهای ۱ و ۲).

مقدار نشاندارسازی در نبود ماده احیاکننده برابر با ۷۲۱/۵ کیلو بکرل بود، در حالی که در غلظت ۲ میلی گرم از این ماده مقدار نشاندارسازی به ۱۰۷۴۵/۹۱ کیلو بکرل افزایش پیدا کرد (نمودار ۳).

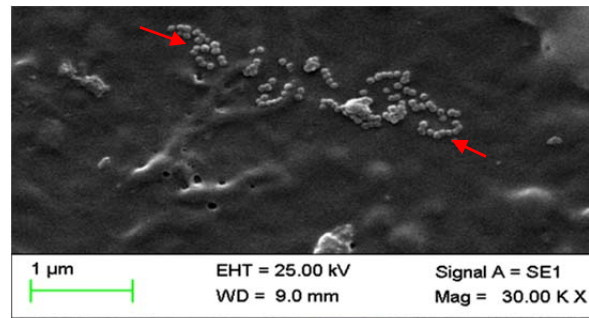
پس از تزریق مگنتوزومها از طریق ورید زیرزبانی موش، مگنتوزومها در کبد تجمع یافتند و به ارگانهای دیگر منتقل نشدند (نمودار ۴).



نمودار ۳) تغییرات میزان نشاندارسازی بر حسب غلظت کلرید قلع (II) (SnCl₂)

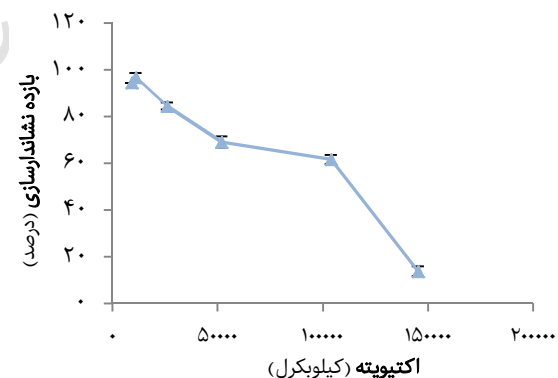


نمودار ۴) بررسی توزیع بیولوژیک مگنتوزومهای نشاندارسازی شده با ¹⁸⁸Re در زمانهای مختلف

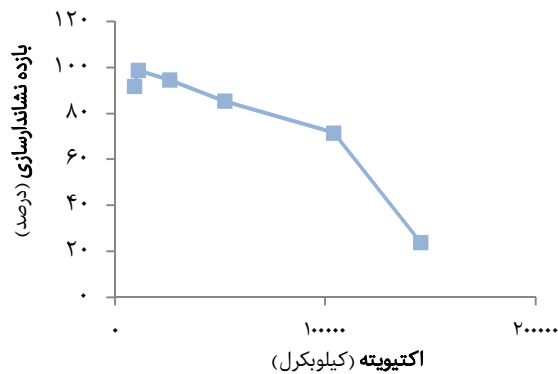


Date : 7 Mar 2016
Time : 12:45:26
ZEISS

شکل ۱) عکس نانوذرات مغناطیسی استخراج شده از باکتری مگنتوتاکتیک *آلفا پروتئوباکتریوم MTB-KTN90* توسط میکروسکوپ الکترونی SEM (ولتاژ بالای EHT) برابر با ۲۵/۰۰ کیلووات، سیگنال A برابر با SE1، فاصله کاری (WD) برابر با ۹ میلی متر و بزرگنمایی (Mag) برابر با ۳۰/۰۰KX بود. فلشها نشان دهنده نانوذرات هستند



نمودار ۱) تغییرات بازده نشاندارسازی بر حسب افزایش اکتیویته در دمای محیط



نمودار ۲) تغییرات بازده نشاندارسازی بر حسب افزایش اکتیویته در دمای ۹۵°C

بحث
پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر دما و ماده احیاکننده بر نشاندارسازی مگنتوزومها با ¹⁸⁸Re و توزیع زیستی نانوذرات مغناطیسی نشاندار شده انجام شد. آنالیزهای انجام شده از مگنتوزومهای تولید شده توسط باکتری *آلفا پروتئوباکتریوم MTB-KTN90* ثابت کرده است که نانوکریستالهای مغناطیسی درون مگنتوزومها از جنس مگنتیت (Fe₃O₄) هستند [4, 15]. امروزه سوار کردن مولکولهای عملکردی روی نانوذرات به منظور کاربردهای متنوع آنها در زیست فناوری و پزشکی دارای اهمیت است. حضور یک غشا در اطراف نانوذرات مغناطیسی برای سوار کردن مولکولهای عملکردی و رادیوایزوتوپها روی آنها بسیار حایز اهمیت است. حضور غشاهای آلی ذاتی در اطراف نانوذرات مغناطیسی باکتریایی ما را قادر به سوار کردن مولکولهای عملکردی روی سطح آنها کرده است. همچنین بررسیها ثابت کرده است که نانوذرات مغناطیسی زیست زای تولید شده توسط باکتریهای مگنتوتاکتیک به دلیل داشتن پوشش لیپیدی ذاتی اطرافشان به خوبی در آب پخش می شوند و به یکدیگر نمی چسبند (Aggregate)، در حالی که نانوذرات مغناطیسی ساخته شده به روش مصنوعی با احتیاج به کمک کننده برای محلول سازی دارند. این خصوصیات برجسته باعث شده است که امروزه این نانوکریستالهای مغناطیسی باکتریایی نسبت به آنالوگهای سینتیک خود ترجیح داده شوند [27, 5]. در پژوهش حاضر نیز غشای نازک طبیعی پوشیده شده به دور هر نانوذره از چسبیده شدن این نانوذرات مغناطیسی به یکدیگر

از تزریق در کبد موش بود. حداکثر بعد از گذشت ۲۴ ساعت نانوذرات نشاندارشده از خون پاکسازی شد و تجمع آنها در دیگر بافت‌های حیوان آزمایشگاهی در حد ناچیز بود. این آزمایش نشان‌دهنده این مطلب است که بافت هدف مگنتوزوم‌های نشاندارشده، کبد بود و این نانوذرات مغناطیسی زیست‌زا دارای خاصیت رساندن رادیو ایزوتوپ ^{188}Re به کبد بودند. در صورتی که اگر ^{188}Re تنها و فاقد ناقل به حیوان تزریق شود، ^{188}Re از طریق ادرار دفع شده و بعد از گذشت چند ساعت اکتیویته از بدن حیوان خارج می‌شود. مطالعات حیوانی حاکی از آن بوده است که مگنتوزوم‌های نشاندارشده با ^{188}Re به دلیل پوشش لیپیدی اطراف نانوذرات مغناطیسی زیست‌زا در کبد تجمع یافته و دارای ماندگاری بالایی در کبد هستند که با توجه به انرژی بالای ^{188}Re می‌توان از آن برای درمان سرطان‌های کبد استفاده نمود. در نتیجه مگنتوزوم‌ها می‌توانند کاندید مناسبی به منظور انتقال هدفمند دارو به کبد در سرطان‌های کبدی باشند. یافته‌ها در توزیع بیولوژیک مگنتوزوم‌ها در این پژوهش مشابه دیگر محققان بود. آنها نیز پس از تزریق مگنتوزوم‌ها از طریق ورید زیربانی موش به این نتیجه رسیده‌اند که مگنتوزوم‌ها در کبد تجمع یافته و به ارگان‌های دیگر منتقل نشده‌اند. آنها همچنین هیچ مشاهده‌ای برای وجود مگنتوزوم‌ها در مدفوع و ادرار پس از ۷۲ ساعت به‌دنبال تزریق داخل وریدی مشاهده نکرده‌اند^[1].

تحقیقات نشان داده است که طراحی و توسعه حامل‌های نشاندارشده با ^{188}Re برای درمان سرطان در انسان‌ها به‌صورت پیوسته مورد توجه و علاقه دانشمندان بوده است. امروزه فناوری‌های نانو برای انتقال هدفمند دارو برای کاهش عوارض جانبی درمان با داروها در حال توسعه است. محققان بر این عقیده‌اند که مگنتوزوم‌های تولیدشده توسط باکتری‌های مگنتوتاکتیک یک نوع نانومواد مغناطیسی جدید با خصوصیات منحصر به فردی هستند که به‌عنوان نانوکریستال‌های آرمان‌گرایانه متمایز دسته‌بندی می‌شوند. یافته‌ها مشخص کرد که مگنتوزوم‌های باکتری مگنتوتاکتیک *آلفا پروتئوباکتریوم MTB-KTN90* قابلیت بالایی برای نشاندارسازی توسط رادیو ایزوتوپ ^{188}Re را داشت که در نتیجه می‌تواند به‌عنوان یک کاندید باارزش و یک فرصت نویدبخش برای بررسی انتقال هدفمند رادیودارو به ارگان هدف باشد. همچنین مشخص شد که افزایش دما روی بازده نشاندارسازی مگنتوزوم‌ها تأثیر قابل توجهی نداشت، بنابراین آنها دارای درجه بالای کاربریسندی هستند. این نتایج بیانگر سهولت نشاندارسازی و سهولت استفاده از نانوذرات مغناطیسی مذکور در مراکز پزشکی هسته‌ای است. در بررسی‌های توزیع زیستی، بیشترین تجمع مگنتوزوم‌های نشاندارشده با ^{188}Re در کبد بود که این امر نشان می‌دهد که نانوذرات مغناطیسی زیست‌زا خاصیت رساندن رادیو ایزوتوپ ^{188}Re به کبد را دارند و می‌توانند به‌عنوان یک کاندید باارزش برای بررسی انتقال هدفمند رادیو ایزوتوپ به ارگان هدف (کبد) باشند. پژوهش حاضر محدودیتی نداشت.

نتیجه‌گیری

مگنتوزوم‌های استخراج‌شده از باکتری مگنتوتاکتیک *آلفا پروتئوباکتریوم MTB-KTN90* قابلیت بالایی برای نشاندارسازی توسط ^{188}Re دارند. افزایش دما روی بازده نشاندارسازی تأثیر ندارد، ولی ماده احیاکننده کلرید قلع (II) یک فاکتور بسیار مهم در بهینه‌سازی بازده نشاندارسازی است و بیشترین تجمع مگنتوزوم‌های نشاندارشده با ^{188}Re پس از تزریق،

جلاگیری کرد که می‌توان گفت سبب افزایش سطح موجود برای نشانند مولکول‌های عملکردی روی مگنتوزوم‌ها می‌شود. کاهش بازده نشاندارسازی با افزایش اکتیویته پس از اکتیویته اول (11100 کیلو بکرل) در این پژوهش می‌تواند به دلیل اشباع شدن محل‌های اتصال در غلظت‌های بالاتر باشد. طبق یافته‌ها افزایش دما افزایش بازده نشاندارسازی را به‌دنبال نداشت، بنابراین نتایج به‌دست‌آمده یک مزیت برای کاربردی نمودن و استفاده از مگنتوزوم‌ها در مراکز پزشکی هسته‌ای است. هافلی و همکاران در نشاندارسازی ذرات مغناطیسی با ^{188}Re بازده بیش از ۹۵٪ را با افزایش دما تا 99°C به دست آورده‌اند^[28]. بنابراین تأثیر نداشتن دما روی نشاندارسازی مگنتوزوم‌ها نشان داد که نانوذرات مغناطیسی استخراج‌شده از باکتری مگنتوتاکتیک مذکور به راحتی قابل نشاندارسازی با ^{188}Re در مراکز پزشکی هسته‌ای بوده و به عبارت دیگر دارای درجه بالای کاربریسندی است.

رادیونوکلیدهای $^{186/188}\text{Re}$ علی‌رغم دردسترس بودنشان نسبت به ^{131}I و ^{90}Y کمتر برای فرمول‌بندی رادیوداروهای درمانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. علت معدود بودن تحقیقات صورت‌گرفته روی عوامل نشاندارشده با $^{186/188}\text{Re}$ تا حدودی مربوط به پیچیدگی شیمی درگیر در فرآیند نشاندارسازی است. برای مثال به‌منظور تسهیل تشکیل کمپلکس $^{186/188}\text{Re}$ که با کئوردینه شدن به لیگاند صورت می‌گیرد، رنیوم از حالت اکسایش VII به حالت اکسایش پایین‌تر احیا می‌شود. کاهش رنیوم VII نسبت به کاهش تکنسیم VII مشکل‌تر بوده و برای این منظور از عوامل کاهنده‌ای نظیر Sn (II) استفاده می‌شود. حضور Sn (II) می‌تواند واکنش‌های فلزدار کردن یا ماهیت کانجوگه بیومولکولی را تغییر دهد. فایق‌آمدن بر این مشکلات و مسایل مربوط به آن برای تولید ترکیبات نشاندارشده معین با $^{186/188}\text{Re}$ مساله حایز اهمیتی است^[20]. بنابراین یکی از فاکتورهای مهم در نشاندارسازی رادیو ایزوتوپ‌های رنیوم مقدار ماده احیاکننده کلرید قلع (II) است که دارای تأثیر بسزایی در روند آزمایشات است. بنابراین در پژوهش حاضر برای بررسی اثر عامل احیاکننده، مقادیر مختلفی از کلرید قلع (II) به محلول واکنش اضافه شد. هافلی و همکاران گزارش کرده‌اند که بیشترین بازده و پایداری در نشاندارسازی ذرات مغناطیسی با ^{188}Re در غلظت ۲ میلی‌گرم ماده احیاکننده نتیجه داده است^[28] که پژوهش حاضر نیز با آن همخوانی داشت. در صورتی که چانفیو و همکاران بازده بهینه در نشاندارسازی نانوذرات مغناطیسی پوشش‌داده‌شده با آلومین سرم انسانی را با ^{188}Re در غلظت ۸ میلی‌گرم ماده احیاکننده گزارش داده‌اند^[29]. از آنجایی که حضور Sn (II) می‌تواند واکنش‌های نشاندارسازی یا ماهیت کانجوگه بیومولکولی را تغییر دهد، می‌توان نتیجه گرفت که ماده احیاکننده در آزمایشات نشاندارسازی مگنتوزوم‌ها با ^{188}Re دارای نقش مهمی است.

توزیع بیولوژیک رادیوداروها یکی از جنبه‌های مهم درمان با رادیونوکلیدها است، در حالی که اتصال غیرویژه با اقامت در حوضچه خونی یکی از ملاحظات مهم است. یکی از اصلی‌ترین مسئولیت‌های پزشکی هسته‌ای این است که الگوهای توزیع بیولوژیک یک رادیونوکلید درمانی را بداند. دانستن این مطلب نه‌تنها از نظر ایمنی بلکه برای تخمین دزیمتری صحیح اهمیت دارد. علاوه بر آن با دانش توزیع بیولوژیک یک رادیودارو می‌توان رادیو ایزوتوپ درست و مناسب را برای هدف درمانی انتخاب کرد^[20]. همان گونه که در نمودار ۴ مشاهده شد، بیشترین تجمع مگنتوزوم‌های نشاندارشده با ^{188}Re بعد از گذشت ۴۸ ساعت پس

chemiluminescence immunoassay of insulin using antibody protein a-bacterial magnetic particle complexes. *Anal Chem.* 2000;72(15):3518-22.

13- Tanaka T, Takeda H, Kokuryu Y, Matsunaga T. Spontaneous integration of transmembrane peptides into a bacterial magnetic particle membrane and its application to display of useful proteins. *Anal Chem.* 2004;76(13):3764-9.

14- Kuhara M, Takeyama H, Tanaka T, Matsunaga T. Magnetic cell separation using antibody binding with protein a expressed on bacterial magnetic particles. *Anal Chem.* 2004;76(21):6207-13.

15- Tajer Mohammad Ghazvini P. Isolation of magnetic nanoparticles producer bacteria for evaluation in bioremediation processes [Dissertation]. Tehran: Alzahra University; 2014. [Persian]

16- Neacsu B, Cimpeanu C, Barna C. Radionuclidic purity- an essential parameter in quality control of radiopharmaceuticals. *Romanian Rep Phys.* 2013;65(1):155-67.

17- Smith BT, editor. Nuclear pharmacy concepts and applications. Yavari K, Ghannadi Maragheh M, translators. Tehran: Nuclear Science and Technology Research Center; 2011. [Persian]

18- Saha GB. Fundamentals of nuclear pharmacy. Ghannadi Maragheh M, Gholipoor Peyvandi R, Bahrami Samani A, translators. Tehran: Nuclear Science and Technology Research Center; 2008. [Persian]

19- Zhang L, Chen H, Wang L, Liu T, Yeh J, Lu G, et al. Delivery of therapeutic radioisotopes using nanoparticle platforms: Potential benefit in systemic radiation therapy. *Nanotechnol Sci Appl.* 2010;3:159-70.

20- Ghannadi Maragheh M, editor. In nuclear technology. Tehran: Nuclear Science and Technology Research Institute; 2011.

21- Tajer Mohammad Ghazvini P, Kasra Kermanshahi R, Nozad Golikand A, Sadeghizadeh M. A green chemical technique for the synthesis of magnetic nanoparticles by magnetotactic bacteria. *Int J Biol Biomol Agric Food Biotechnol Eng.* 2013;7(2):129-32.

22- Ghorbanzadeh Mashkani S, Tajer Mohammad Ghazvini P, Nozad Golikand A, Kasra Kermanshahi R, Davarpanah MR. Synthesis of sterile and pyrogen free biogenic magnetic nanoparticles: Biotechnological potential of magnetotactic bacteria for production of nanomaterials. *Int J Biol Biomol Agric Food Biotechnol Eng.* 2013;7(2):133-7.

23- Alphandéry E, Faure S, Seksek O, Guyot F, Chebbi I. Chains of magnetosomes extracted from AMB-1 magnetotactic bacteria for application in alternative magnetic field cancer therapy. *ACS Nano.* 2011;5(8):6279-96.

24- Grünberg K, Wawer C, Tebo BM, Schüler D. A large gene cluster encoding several magnetosome proteins is conserved in different species of magnetotactic bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 2001;67(10):4573-82.

25- Adeli R, Ghannadi Maragheh M, Shamsaei Zafarghandi M, Bahrami Samani A, Salimi B. Production, quality control and biological evaluation of ⁹⁰Y-EDTMP in rats. *J Nucl Sci Technol.* 2010;(52):40-3. [Persian]

26- Tsai CS, Liu WC, Chen HY, Hsu WC. Preparation and characterization of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles labeled with technetium-99m pectectetate. *Appl Mech Mater.* 2014;459:51-9.

27- Corchero JL, Villaverde A. Biomedical applications of distally controlled magnetic nanoparticles. *Trends Biotechnol.* 2009;27(8):468-76.

تشکر و قدردانی: مقاله حاضر بخشی از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد بوده است که از حمایت‌های دانشگاه شهیدبهشتی و پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای تشکر و قدردانی می‌شود.

تاییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

تعارض منافع: موردی وجود نداشته است.

سه‌م نویسندگان: سیدمحمودرضا آقامیری (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی (۲۵٪); سمیه اکبری‌کراده (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی (۲۵٪); پریسا تاجرمحمدقزوینی (نویسنده سوم)، پژوهشگر اصلی /تحلیلگر آماری (۲۵٪); سعید قربان‌زاده‌مشکانی (نویسنده چهارم)، پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۲۵٪)

منابع مالی: مقاله حاضر از حمایت‌های مالی دانشگاه شهیدبهشتی و پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای برخوردار بوده است.

منابع

- 1- Sun J, Li Y, Liang XJ, Wang PC. Bacterial magnetosome: A novel biogenetic magnetic targeted drug carrier with potential multifunctions. *J Nanomater.* 2011;2011:469031.
- 2- Bazylinski DA, Frankel RB. Magnetosome formation in prokaryotes. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2(3):217-30.
- 3- Faivre D, Schüler D. Magnetotactic bacteria and magnetosomes. *Chem Rev.* 2008;108(11):4875-98.
- 4- Tajer Mohammad Ghazvini P, Kasra Kermanshahi R, Nozad Golikand A, Sadeghizadeh M. Isolation and characterization of a novel magnetotactic bacterium from Iran: Iron uptake and producing magnetic nanoparticles in alphaproteobacterium MTB-KTN90. *Jundishapur J Microbiol.* 2014;7(9):e19343.
- 5- Matsunaga T, Arakaki A. Molecular bioengineering of bacterial magnetic particles for biotechnological applications. In: Schüler D, editor. *Magnetoreception and magnetosomes in bacteria.* Heidelberg: Springer Science & Business Media; 2006. pp. 227-54.
- 6- Xie J, Chen K, Chen X. Production, modification and bio-applications of magnetic nanoparticles gestated by magnetotactic bacteria. *Nano Res.* 2009;2(4):261-78.
- 7- Banerjee IA, Yu L, Shima M, Yoshino T, Takeyama H, Matsunaga T, et al. Magnetic nanotube fabrication by using bacterial magnetic nanocrystals. *Adv Mater.* 2005;17(9):1128-31.
- 8- Hartung A, Lisy MR, Herrmann KH, Hilger I, Schüler D, Lang C, et al. Labeling of macrophages using bacterial magnetosomes and their characterization by magnetic resonance imaging. *J Magn Magn Mater.* 2007;311(1):454-9.
- 9- Hergt R, Dutz S. Magnetic particle hyperthermia - biophysical limitations of a visionary tumour therapy. *J Magn Magn Mater.* 2007;311(1):187-92.
- 10- Hergt R, Hiergeist R, Zeisberger M, Schüler D, Heyen U, Hilger I, et al. Magnetic properties of bacterial magnetosomes as potential diagnostic and therapeutic tools. *J Magn Magn Mater.* 2005;293(1):80-6.
- 11- Sun JB, Duan JH, Dai SL, Ren J, Zhang YD, Tian JS, et al. In vitro and in vivo antitumor effects of doxorubicin loaded with bacterial magnetosomes (DBMs) on H22 cells: The magnetic bio-nanoparticles as drug carriers. *Cancer Lett.* 2007;258(1):109-17.
- 12- Tanaka T, Matsunaga T. Fully automated

Jiajü T. Preparation and radiolabeling of human serum albumin (HSA)-coated magnetite nanoparticles for magnetically targeted therapy. *Appl Radiat Isot.* 2004;61(6):1255-9.

28- Häfeli U, Pauer G, Failing S, Tapolsky G. Radiolabeling of magnetic particles with rhenium-188 for cancer therapy. *J Magn Magn Mater.* 2001;225(1-2):73-8.

29- Chunfu Z, Jinquan C, Duanzhi Y, Yongxian W, Yanlin F,

Archive of SID