



بررسی اثر کوتاه مدت رادیوداروی تالیوم-۲۰۱ بر روی فاکتورهای سرمی موش صحرائی

امیررضا جلیلیان*، مرجان علی‌نژاد

پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۱۳۳۹-۱۴۱۵۵، تهران-ایران

چکیده: بیش از چهار دهه است که از رادیوداروی تالیوم-۲۰۱ برای اسکن قلب به روش عکس‌برداری با SPECT استفاده می‌شود و در ایران نیز حدود ۱۷ سال است که این رادیودارو تولید و مصرف می‌گردد هر چند که مقدار این رادیودارو در محلول‌های تزریقی مانند بسیاری دیگر از رادیوداروها در زیر مقادیر داروشناختی قرار دارد اما تأثیرات زودگذر و آنی این ترکیب بر روی بافت مهمی چون کبد و قلب تا آنجا که نویسندگان اطلاع دارند گزارش نشده است. در این مقاله اثر این رادیودارو بر شاخص‌های بیوشیمیایی کبد در خون مانند بیلی‌روبین، آلکالین فسفاتاز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز بررسی شده است. آزمایش‌ها پس از تزریق رادیودارو به ۱۲ موش برای هر شاخص و خون‌گیری از آن‌ها در بازه‌های زمانی ۱، ۴ و ۲۴ ساعت و به طور موازی با همین تعداد موش بدون تزریق رادیودارو به عنوان شاهد منفی انجام شده‌اند. نتایج نشان می‌دهند که بیلی‌روبین نسبت به شاهد افزایش جزئی را نشان می‌دهد. اما در میزان آلکالین فسفاتاز و آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرمی تغییرات بسیار محسوسی مشاهده می‌شود. اطلاعات به دست آمده در این پژوهش داده‌های ارزشمندی را در ارتباط با فاکتورهای سرمی و تجویز رادیودارو به دست می‌دهد که نه تنها ممکن است در تفسیر آزمون‌های بیوشیمی بالینی بیماران مهم تلقی شود بلکه منجر به ملاحظاتی در بیماران کبدی در ارتباط با تجویز این رادیودارو می‌گردد. بررسی‌های جدید بر روی بیماران انسانی باید انجام شود.

واژه‌های کلیدی: رادیوداروی تالیوم-۲۰۱، کلرید، بیلی‌روبین، آلکالین فسفاتاز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز

The Study of ²⁰¹TlCl Short-Term Effects on Rat Serum Factors

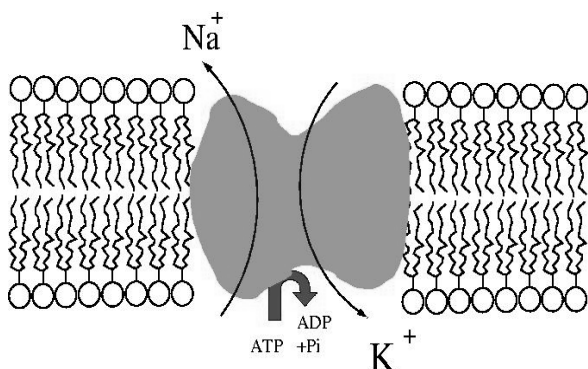
A.R. Jalilian*, M. Alinejad

Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O. Box: 14155-1339, Tehran-Iran

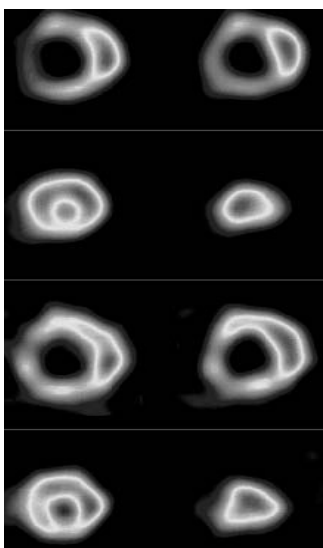
Abstract: Tl-201 administration for cardiac scan using SPECT has been performed for more than 4 decades, while in Iran it has been produced and used for 17 years. Although this radiopharmaceutical is injected at sub-pharmacological doses to the patients, there has been no documented research on the short-term effects on the tissues such as heart and liver, according to the best of our knowledge. In this work, the radiopharmaceutical effects on hepatic serum factors such as, billirubin (BN), alkaline phosphatase (AP), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) have been investigated. The experiments were performed for periods of 1, 4 and 24 hours post injection of the tracer to 12 rats in each group in comparison with the negative control group. The results demonstrated a slight serum BN difference in two groups, while significant differences in serum AST, ALT and AP were detected. The results of this study offer some valuable information on the serum biochemical factors and Tl-201 administration relationship which is not only important in the interpretation of the clinical biochemistry tests, but also would impose limitations on the application of this tracer in patients with hepatic disorders. Further investigations on the human patients must be conducted.

Keywords: ²⁰¹TlCl, Billirubin, Alkaline Phosphatase, Aspartate Aminotransferase, Alanine Aminotransferase

۱- مقدمه



شکل ۱- طرح کلی پمپ NaKATPase.



شکل ۲- شمایی از اسکن قلبی تالیم-۲۰۱ در انسان.

اکثر رادیوداروها و داروها کم و بیش در کبد ذخیره و یا سوخت و ساز می‌کنند و در اکثر موارد، مصرف داروهای معمولی مانند مسکن‌ها و داروهای بدون نیاز به نسخه‌ی پزشکی نیز باعث تغییرات کوتاه مدت بافتی در کبد و برخی اندام‌های سوخت و سازکننده می‌شوند.

از دیرباز برای بررسی سلامت و عوارض جانبی انواع داروها در موجودات زنده بررسی میزان آنزیم‌های متعدد کبدی و یا مواد سوخت و سازی در خون حایز اهمیت بوده و به عنوان یکی از مهم‌ترین ملاک‌های تشخیص اثرات جانبی تلقی می‌شده است، به ویژه اگر این اثرات در بازه‌ی زمانی طولانی ادامه داشته باشند می‌توانند علامت اثرات برگشت‌ناپذیر باشند.

کبد بزرگ‌ترین و پیچیده‌ترین اندام دستگاه گوارش می‌باشد که تنظیم سیستم بیوشیمیایی بدن توسط هپاتوسیت را بر عهده دارد که خود مسئول عمده‌ی فعالیت‌های سوخت و سازی در بدن

استفاده از تالیم در پزشکی هسته‌ای اولین بار در سال ۱۹۷۰ توسط کاوانا^(۱) و همکارانش پیشنهاد شد و از آن تاریخ به بعد تحقیقات زیادی در زمینه‌ی تولید و به کارگیری تالیم در پزشکی هسته‌ای انجام شده است. این رادیودارو به شکل شیمیایی کلرید (TlCl) و به صورت محلول استریل و ایزوتونیک برای تزریق درون وریدی آماده می‌شود و برای تصویربرداری از عضله‌ی قلب (میوکارد) به منظور آشکارسازی آنفارکتوس و ایسکمی به کار می‌رود. ناکافی بودن گردش خون موضعی در عضله‌ی قلب باعث کمبود اکسیژن و ایسکمی میوکارد می‌گردد. در چنین شرایطی انتقالات یونی موجود در عرض دیواره‌ی سلول عضله‌ی قلب تغییر می‌کند. در حالت عادی فعالیت پمپ $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$ (شکل ۱) موجب می‌شود که غلظت یون سدیم (Na^+) در خارج سلول و غلظت یون پتاسیم (K^+) در داخل سلول در حدی نگه داشته شود، که پتانسیل غشا تنظیم گردد. با هیدرولیز شدن هر مولکول ATP، دو یون پتاسیم وارد سلول شده و سه یون سدیم از سلول خارج می‌شود. هنگامی که کم‌خونی موضعی وجود دارد، انرژی (ATP) کم‌تری به این پمپ می‌رسد و در نتیجه یون‌های Na^+ به همراه Cl^- و H_2O در داخل سلول تجمع یافته و یون‌های K^+ به فضای خارج سلول منت می‌کنند. این فرایند نسبت غلظت K^+ داخل سلول به خارج سلول را کاهش می‌دهد و به گونه‌ای چشم‌گیر بر قطبیدگی دیواره و عملکرد عضله‌ی قلب اثر می‌گذارد. با وجود این که تالیم در جدول تناوبی عناصر جزء گروه IIIA است اما شعاع کاتیونی یون یک ظرفیتی آن (Tl^+) هم‌اندازه‌ی یون پتاسیم (K^+) می‌باشد. به این ترتیب تالیم همانند پتاسیم توسط سلول‌ها جذب می‌شود. به طوری که کاهش جذب آن نمایان‌گر کاهش قدرت حیاتی این سلول‌ها است. پس از تزریق رادیوداروی تالیم-۲۰۱ به بیمار، تالیم در عضله‌ی قلب جذب شده و با استفاده از دوربین گاما تصویری از توزیع این ماده در عضله‌ی قلب به دست می‌آید [۱].

یک میوکارد سالم تصویری با پخش یکنواخت ماده‌ی پرتوزا (تالیم-۲۰۱) به دست می‌دهد. در تصویر نایکنواخت نواحی با تجمع کم ماده‌ی پرتوزا بیان‌گر کاهش جریان خون موضعی در آن نواحی و نشانه‌ی ایسکمی یا آنفارکتوس است [۲ و ۳] (شکل ۲).



عنوان فاز ثابت، و استون و یا حلال آمونیم استات ۱۰٪ متانول (۱:۱) به عنوان فاز متحرک به انجام رسید. کروماتوگرافی مواد نشان‌دار شده، روی لایه‌ی نازک سیلیکاژل با پایه‌ی آلومینیمی به ابعاد ۲۰cm×۲۰cm انجام پذیرفت.

شمارش قطعات کروماتوگرافی با استفاده از آشکارساز ژرمانیم فوق خالص مدل GC1020-7500SI، و با توجه به قله‌ی واقع در انرژی ۱۴۷keV در طیف انرژی تالیم-²⁰¹ انجام شد.

۲-۳ تزریق رادیودارو به موش‌های سوری سالم و تهیه نمونه‌ها

به تعداد لازم، سرنگ انسولین در داخل اتاقک سربی تا رسیدن فعالیت پرتوزایی آن به $25 \pm 2 \mu\text{Ci}$ با حداکثر حجم ۵۰ میکرولیتر از رادیوداروی تالیم کلرید پر شدند. موش‌ها به منظور تزریق رادیودارو و نمونه‌گیری از خون آن‌ها توسط مخلوط پروپوفول و زایلانین بیهوش شدند. آن‌گاه از هر کدام از موش‌ها قبل از تزریق رادیودارو و سپس از تزریق در بازه‌های زمانی ۱، ۴ و ۲۴ ساعت نمونه‌گیری خون به عمل آمد. تزریق رادیودارو به صورت درون وریدی و به دم موش صورت گرفت و نمونه‌گیری خون از قلب انجام شد. به دلیل کم بودن حجم خون موش‌ها، از سه سری موش و هر کدام شامل سه موش استفاده شد.

۲-۴ آماده‌سازی خون برای انجام آزمون‌های بیوشیمیایی

نمونه‌های خونی گرفته شده از موش‌ها در داخل لوله‌های آزمایش آغشته به هپارین (ماده‌ی ضد انعقاد خون) ریخته شد و پس از قرار گرفتن به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه پلاسما‌ی خون جداسازی شده برای انجام تست میزان آنزیم‌های سرمی به آزمایشگاه بیوشیمی ارسال شدند.

۲-۵ انجام تست‌های بیوشیمیایی

تست‌های بیوشیمیایی برای سنجش مقدار بیلی‌روبین (تام، مستقیم و غیرمستقیم)، آلکالن فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز در نمونه‌های سرمی و توسط کیت‌ها انجام شدند. اساس کار این کیت‌ها ایجاد ماده رنگی در حضور یک آنزیم و یک سوبسترا در طی واکنش شیمیایی بین ماده‌ی مورد سنجش و آنزیم مخصوص و نهایتاً تعیین چگالی نور حاصل از رهش ماده‌ی رنگی در محیط می‌باشد.

می‌باشد. یکی از مهم‌ترین محصولات دفعی کبد که دارای ارزش زیادی در آزمون‌های بیوشیمی بالینی می‌باشد، بیلی‌روبین (BN) می‌باشد. روزانه تقریباً ۲۵۰ تا ۳۵۰ میلی‌گرم بیلی‌روبین در بالغین سالم تولید می‌شود، که حدود ۸۵ درصد آن، حاصل نوسازی گلبول‌های قرمز فرسوده است [۲]. یکی دیگر از عوامل مهم بیوشیمیایی آنزیم آلکالن فسفاتاز (AP) است که اولین بار در استخوان‌ها و کبد یافت شد این عامل، در افراد در حال رشد (مثل بچه‌ها، زنان حامله) یا زمانی که به استخوان‌ها یا کبد صدمه وارد می‌شود یا با سنگ‌های کیسه‌ی صفرا بالاتر می‌رود. آسپارات آمینوترانسفراز (AST) که به گلوتامات اگزوالواتات ترانس آمیناز سرمی (SGOT) نیز معروف است [۴]، در کبد، قلب، کلیه، پانکراس و عضلات یافت می‌شود. در بافت‌های آسیب‌دیده به خصوص در قلب و کبد این آنزیم بیش‌تر مشاهده می‌شود [۵]. آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، که سابقاً گلوتامات پیرووات ترانس آمیناز سرمی (SGPT) نامیده می‌شد [۲]، در بافت‌های بدن مانند قلب و عضلات و غیره به مقدار کم وجود دارد ولی عملکرد اصلی آن در کبد می‌باشد. افزایش آن نیز نشانه‌ی آسیب کبدی می‌باشد.

با تزریق رادیوداروی تازه تهیه شده‌ی تالیم-²⁰¹ به موش‌های صحرائی سالم تحت کنترل از طریق ورید دمی در زمان‌های کوتاه مختلف ۴ عامل سرمی موش‌ها در مقایسه با گروه شاهد تحت آزمون‌های بیوشیمیایی قرار گرفتند و به دفعات بررسی مجدد انجام پذیرفت.

۲- بخش تجربی

۲-۱ مواد و وسایل

رادیوداروی تالیم-²⁰¹ به شکل کلرید یک طرفیتی در پژوهشکده‌ی تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی کرج از طریق پرتودهی اکسید تالیم-²⁰³ غنی شده با درجه‌ی خلوص رادیوشیمیایی و رادیونوکلیدی بیش از ۹۹٪ تولید گردید. ترکیبات شیمیایی دیگر تماماً از شرکت آلدریج تهیه شدند. موش‌های صحرائی نر با وزن میانگین ۳۰۰ گرم از انستیتو رازی کرج و کیت‌های تجاری از شرکت سیناژن تهیه شدند.

۲-۲ روش‌ها و دستگاه‌ها

کنترل کیفی رادیوداروی تولید شده از طریق رادیوکروماتوگرافی لایه‌ی نازک و با استفاده از کاغذ واتمن به ابعاد ۱۰cm×۱cm به



۳-۱-۳ اسپاراتات آمینوترانسفراز

اسپاراتات آمینوترانسفراز که به گلو تامات اگزوالواستات ترانس آمیناز سرمی نیز معروف است مسئول واکنش برگشت پذیر آمینواسیدها و الفا کتوگلو تاریک اسید با انتقال گروه آمینی می باشد که در کبد، ماهیچه و کلیه به میزان زیاد یافت می شود. در سال ۱۹۵۷ ریتمان و فرانکل روش رنگ سنجی برای تشخیص این آنزیم در خون را ارایه کردند که تاکنون اساس بسیاری از کیت های تجاری تشخیصی این آنزیم را تشکیل می دهد. بر اثر واکنش دی نیترو فنیل هیدرازین با اگزوالواستات محصول هیدرازونی تشکیل می شود که در حضور قلیا به ماده ی رنگی ای تبدیل می شود که در یک طیف نورسنج به روش کمی قابل سنجش است [۱۰]. شکل ۶ تغییرات مقدار اسپاراتات آمینوترانسفراز با گذشت زمان را ترسیم می کند.

در تست های سرمی، افزایش مقدار این آنزیم معمولاً می تواند نشان گر آسیب کبدی باشد. تقریباً بلافاصله پس از تزریق، مقادیر آنزیم در سرم بالا می رود. البته، این، به دلیل آسیب کبدی نیست بلکه با توجه به این که رادیوداروی تالیم-۲۰۱ اصولاً در قلب بیش تر تمرکز می یابد می تواند به دلیل تخریب برخی از سلول های میوکاردا باشد. ولی چون این آسیب بسیار محدود است در ساعات بعدی بلافاصله به حد نرمال نزدیک می شود. آسیب رادیودارو هر چند از نظر بالینی چندان اهمیت ندارد ولی از نظر زیست شناسی پرتوی می تواند به دلیل پراکنش الکترون اوژه زیادی باشد که از این رادیویزوتوپ گسیل می شود. این رادیودارو به دلیل ورود به سلول قلبی می تواند به سلول صدمه ی مولکولی وارد کرده و گاهاً منجر به مرگ سلول گردد. بسیاری از رادیویزوتوپ های تشخیصی مورد استفاده در پزشکی هسته ای دارای الکترون اوژه می باشند. در جدول ۲ برخی از این رادیویزوتوپ ها و بازده گسیل الکترون اوژه ی آن ها آورده شده است [۱۱].

۳-۱-۴ آلانین آمینوترانسفراز

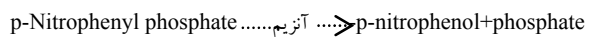
سیر روند افزایش این آنزیم جالب است. در ساعت اول میزان این آنزیم به ۴ برابر حد معمول می رسد و ظرف ۴ ساعت بیشینه مقدار خود (۸ تا ۹ برابر معمول) می رسد، ولی پس از ۲۴ ساعت یک روند نزولی را دنبال می کند. به نظر می رسد که در ۴ ساعت اول تجمع اختصاصی رادیودارو در بافت قلب و انهدام اختصاصی برخی سلول های میوکاردا و تا حدودی جگر باعث افزایش این آنزیم در سرم می گردد (شکل ۷).

این چنین افزایش سریع مقدار بیلی روبین مزدوج نشان از تخریب نسبتاً سریع گلبول های قرمز به دلیل اثرات مستقیم تابش بر روی سیستم خونساز و یا گلبول های در گردش و یا هر دو به صورت هم زمان دارد؛ به طوری که مقدار بالای بیلی روبین آزاد شده در سرم به دلیل تخریب جدار سلول ها و تجمع آن در کبد با عملکرد انتقالی آلبومین نهایتاً منجر به مزدوج شدن سریع بیلی روبین و افزایش نهایی آن در سرم می گردد.

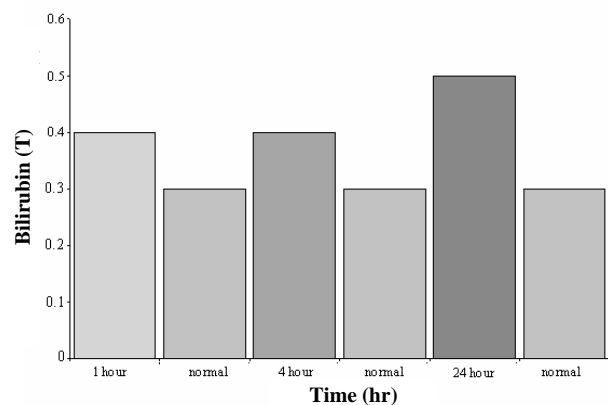
بر اساس آزمون های فوق و توجه به مفهوم بیلی روبین تام، طبیعی است که مقدار تام مجموع دو مقدار فوق می باشد. شکل ۵ تغییرات بیلی روبین تام با زمان را نشان می دهد.

۳-۱-۲ آلکان فسفاتاز

همان گونه که اشاره شد این آنزیم مسئول هیدرولیز استرهای فسفات در محیط قلیایی می باشد که منجر به تولید فسفات آزاد و یک رادیکال آلی می گردد و بیش تر در استخوان و جگر یافت می شود. تعیین مقدار مستقیم این آنزیم در سرم در بسیاری از تحقیقات بررسی سلامت داروها حایز اهمیت است. این مقاله نیز از روش معمول کیت رنگ سنجی بر اساس واکنش یک سوبسترای رنگی موسوم به پارانیتروفنیل فسفات با آنزیم و ایجاد محصول زرد رنگ در ۴۰۵ نانومتر بهره جسته است. میزان جذب نور با غلظت آنزیم نسبت مستقیم دارد [۹]



داده های مربوط به اندازه گیری ها نشان داد که میزان آلکان فسفاتاز در زمان های متوالی تا ۲۴ ساعت در سرم یا تغییر نکرد و یا این که تغییر نامحسوس بود.



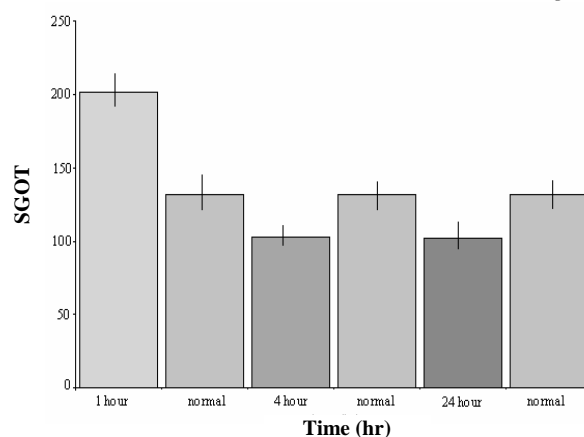
شکل ۵- تغییرات بیلی روبین تام با زمان (SD±۰,۰۵ و n=۳).



نشان داد. اما تغییر در مقدار آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز قابل توجه بود. این رادیودارو با مقادیر خیلی جزئی داروشناختی چنین آثاری را ایجاد کرده است که نشان‌دهنده‌ی اثرات پرتویی رادیودارو می‌باشد. البته در همه‌ی موارد میزان افزایش آنزیم‌ها براساس بافتی که رادیودارو در آن تجمع می‌یابد و براساس برهم‌کنش پرتو با آن سلول‌ها توجیه‌پذیر است. تنها نمونه‌ی استثنایی که مشاهده می‌شود این است که مقدار آلکالین فسفاتاز نسبت به نرمال یا شاهد آزمایش تغییرات زیادی پیدا نکرده است. مقدار آسپارات آمینوترانسفراز در یک ساعت اول افزایش و سپس بعد از گذشت ۴ و ۲۴ ساعت نسبت به شاهد کاهش می‌یابد. هم‌چنین در این تحقیق افزایش بسیار زیادی در آلانین آمینوترانسفراز که یکی از عوامل آسیب‌کبدی می‌باشد مشاهده شده است. در واقع می‌توان گفت که به دلیل بازده بالای پراکنش الکترون‌اثری پراثری در محل بافت‌های هدف یعنی قلب و کبد در ۲۴ ساعت اولیه مرگ سلولی ناچیزی ملاحظه می‌گردد که البته از نظر زیست‌شناسی پرتوی بسیار جالب ولی از نظر عوارض دارویی چندان غیرمنتظره نمی‌باشد. لازم است بررسی‌های بیش‌تری بر روی نمونه‌های انسانی صورت گیرد تا دلیل این تغییرات خونی بیش‌تر مشخص شود.

پی‌نوشت:

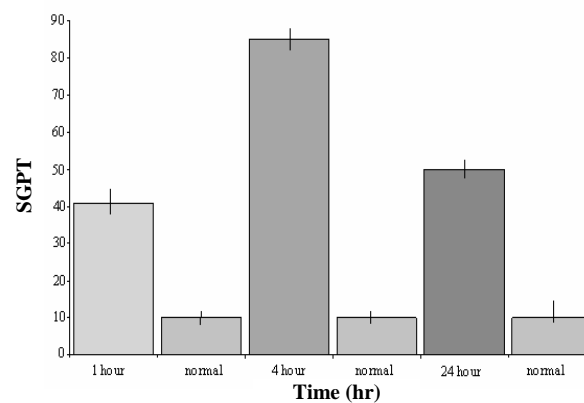
۱- Kawana



شکل ۶- تغییرات آسپارات آمینوترانسفراز با گذشت زمان ($n=3$ و $SD \pm 0.05$).

جدول ۲- بازده گسیل الکترون‌اثری برخی از رادیویزوتوپ‌های مورد استفاده در پزشکی هسته‌ای

Auger Emitter	Total Auger/CK electrons/decay
Gallium-67	4.7
Iodine-123	14.9
Iron-55	5.1
Technetium-99m	4.0
Indium-111	14.7
Iodine-125	24.9
Thallium-201	36.9



شکل ۷- تغییرات آلانین آمینوترانسفراز با زمان.

۴- نتیجه‌گیری

رادیوداروی تالیم-۲۰۱ از مهم‌ترین رادیوداروهایی است که در کشور ما برای تشخیص نارسایی‌های قلبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پژوهش براساس تغییرات سرمی عامل‌های آنزیمی و سوخت و سازی کبد در نمونه‌های حیوانات آزمایشگاهی در زمان‌های ۱ و ۲ و ۲۴ ساعت پس از تزریق رادیودارو انجام شد. نمودارهای تغییرات بیلی‌روبین نسبت به شاهد افزایش جزئی را



References:

1. <http://en.wikipedia.org/wiki/NaKATPase>
2. ح. محتشمی، "بهینه‌سازی تولید تالیم-۲۰۱ از طریق پرتو دهی تالیم-۲۰۳ با حداکثر جریان ممکن و بررسی مسایل انتقال حرارت بر روی هدف،" پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی هسته‌ای، پرتویزشکی (۱۳۷۶-۱۳۷۷).
3. <http://halibm.hp.infoseek.co.jp/ExMyoTl.htm>
4. ر. مک‌پرسون، م. پین‌کاس، بیوشیمی بالینی، مترجمین سالار بختیاری و ...، تهران، اندیشه رفیع (۱۳۸۶).
5. www.amarillomed.com
6. <http://www.drugs.com/enc.bilirubin.html>
7. David K. Weber, Kathleen Danielson, Stan Wright, Janet E. Foley, "Hematology and serum biochemistry values of dusky-footed wood rat (neotoma fuscipes)," *Journal of Wildlife Diseases*, 38(3), 576-582 (2002).
8. Nwangwu Spencer, Adeyekun Felix, Uhunmwangho S. Esosa, Madu Michael, Ofusori David, Nwangwu Udoka4, Njoya Helen1, J. Josiah, "SundayHaemolytic effects and changes in serum enzymes in normal rats exposed to halofantrine hydrochloride Overdose," *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Vol. 3(11), 556-559 (2009).
9. http://www.drkaslow.com/html/alkaline_phosphatase.html
10. S. Reitman and S. Frankel, "Acolorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic & glutamic pyruvic trans aminases," *Am. J. Clin. Pathol*, 28:57-63 (1957).
11. Auger Electron Dosimetry, AAPM Report, No. 37 (1993).