

Tc-99m ile İşaretli Kurkumin Yüklü Katı Lipit Nanopartiküllerin Karaciğer-Dalak Sintigrafisindeki Rolü

Hayrettin EROGLU¹, Ayşe YENİLMEZ², Arif Kursad AYAN³, Cemal GÜNDOĞDU⁴, Sare ŞİPAL⁴

ÖZET: Son zamanlarda, hastalıkların tanı ve tavisini kolaylaştırmak amacıyla, nanoteknoloji ve moleküler görüntüleme alanları, çok fonksiyonlu nanopartiküllerin oluşturulması ile birleştirilmiştir. Nanopartiküllerden oluşturulan yeni nesil görüntüleme ajanlarının sahip olduğu çok yönlü ve eşsiz özelliklerinden faydalanan alanlardan biriside nükleer tıp alanıdır. Yapılan bu çalışmada; kurkumin yüklü katı lipit nanopartiküllerin (K-KLN) karaciğer ve dalak sintigrafisinde kullanılabilirliği araştırıldı. Öncelikle, kurkumin yüklü katı lipit nanopartiküller (K-KLN) mikroemülsiyon ve düşük-sıcaklıkta katılaştırma yöntemiyle hazırlandı. Lazer kırınımı (LD) analizi ile partikül boyutu belirlendi. Termogravimetrik analizi (TGA) ile K-KLN'lerin sıcaklığa karşı stabil olduğu gözlemlendi. Daha sonra K-KLN'ler Teknesyum-99m (^{99m}Tc) ile radyoaktif olarak işaretlendi. İnce katman kromatografi yöntemi ile radyoaktif işaretleme etkinliği %95'den daha fazla olarak bulundu. ^{99m}Tc-K-KLN'ler intravenöz (i.v.) olarak tavşana enjekte edildi ve gama kamera ile dinamik görüntüler kaydedildi. Elde edilen dinamik görüntülerde karaciğer ve dalak belirgin bir şekilde görüntülendi. Sintigrafik bulgulara ek olarak yapılan ex vivo biyodağılım çalışmaları ve floresan mikroskop çalışmalarında karaciğer ve dalakta ^{99m}Tc-K-KLN'lerin varlığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Biyodağılım, katı lipit nanopartikül, kurkumin, sintigrafi, Tc-99m

The Role of Curcumin-Loaded Solid Lipid Nanoparticles Labeled with Tc-99m in the Liver-Spleen Scintigraphy

ABSTRACT: Recently, nanotechnology and molecular imaging fields are integrated to facilitate the diagnosis and the treatment of diseases with create multi-functional nanoparticles. Nuclear medicine is one of the fields that benefit from the multi-faceted and unique characteristics of new generation imaging agents that are made of nanoparticles. This study investigated the feasibility of using curcumin-loaded SLNs in liver and spleen scintigraphy. Initially, the curcumin-loaded solid lipid nanoparticles (C-SLN) were prepared using microemulsion and solidification at low temperatures. The size of the C-SLN particle is measured by Laser diffraction (LD) method. Moreover, by applying thermogravimetric analysis (TGA) it is observed that C-SLN particles are stable with temperature variation. Then, they are radiolabeled with Technetium-99m (^{99m}Tc). Using the thin-layer chromatography method, the radiolabeling efficiency was found to be higher than 95%. ^{99m}Tc-C-SLNs were injected to the rabbit intravenously (i.v.) and using a gamma camera, dynamic images were recorded. Liver and spleen were clearly displayed in these dynamic images. In addition to scintigraphic findings, the presence of ^{99m}Tc-C-SLNs in the liver and the spleen was observed in the ex vivo biodistribution studies and the analyses performed under the fluorescence microscope.

Keywords: Biodistribution, curcumin, scintigraphy, solid lipid nanoparticle, Tc-99m

¹ Atatürk Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği, Erzurum, Türkiye

² Atatürk Üniversitesi, Nanobilim ve Nano Mühendisliği, Erzurum, Türkiye

³ Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp, Erzurum, Türkiye

⁴ Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Bölümü, Erzurum, Türkiye

Sorumlu yazar/Corresponding Author: Hayrettin EROGLU, heroglu@atauni.edu.tr

GİRİŞ

İnsan vücudundaki çeşitli fizyolojik ve fonksiyonel olayların anlaşılmasına yardımcı olan nükleer tıpta, görüntü elde etmenin yolu radyoaktif maddenin hedef organda tutulmasıyla sağlanır. Radyoaktif madde hedef organda ne kadar yoğunlukta tutulur ve zemin aktivite ne kadar az olursa görüntüleme kaliteside o kadar iyi olur. Görüntü kalitesinin yüksek oluşu ise tanıda doğruluğu beraberinde getirir. Tanı ve tedavi amacıyla vücut içine uygulanan radyoaktif madde ile işaretli bileşikler radyofarmasötik olarak bilinir. Yani radyoizotop ile biyoaktif bir bileşenin birleştirilmesi ile oluşturulmuştur. Biyoaktif ajan kısmı seçilen organda lokalize olma özelliğine uygun olmalıdır ve radyoaktif kısım da bileşen lokalizasyonun sağlandığı organda ışıma yaparak deteksiyon imkanı sağlamalıdır (Saha, 2010). Bu nedenle nükleer tıpta görüntüleme için alternatif radyofarmasötiklerin bulunması ve geliştirilmesi çok büyük önem kazanmaktadır.

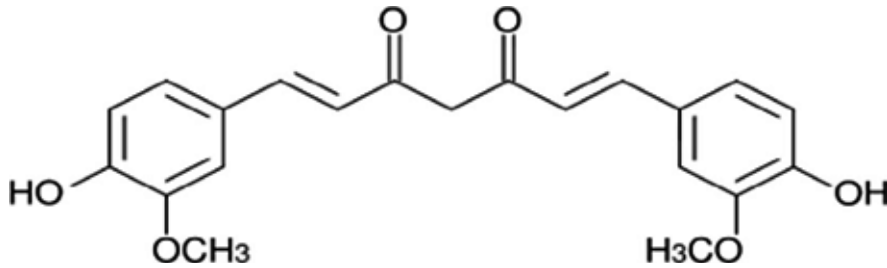
SPECT (tek-foton yayan bilgisayarlı tomografi) çalışmaları için 6 saatlik bir yarı ömre sahip olması, 140 keV enerjili gama ışını yayması ve düşük maliyet özelliklerine sahip olması ^{99m}Tc 'i birçok ilacın yanı sıra nanopartiküllerin de radyoaktif olarak işaretlenmesinde ideal bir radyonüklid yapar. Teknesyumun +7 den -1'e kadar değişen oksidasyon basamakları mevcuttur. Teknesyumun kimyasal olarak farklı oksidasyon basamaklarında bulunması ise onun farklı vücut organları tarafından seçici olarak alınması amacıyla çeşitli radyofarmasötiklerin tasarımında kullanımını mümkün kılar. ^{99m}Tc ile işaretli pek çok

radyofarmasötik nükleer tıpta diagnosotik amacıyla kullanılır (Zolle, 2007).

Öteyandan, karaciğer ve dalak sintigrafisi karaciğer-dalak patolojilerinin belirlenmesi için kullanılan yöntemlerden biridir. Karaciğer ve dalak sintigrafisi, intravenöz olarak verilen radyofarmasötiklerin karaciğer ve/veya dalağın kan havuzunda yada retikuloendotelyal hücrelerde lokalize olması ve radyofarmasötiklerden yayılan gama ışınlarının gama kameralar tarafından dedekte edilmesi prensibine dayanır.

Biyoaktif özellik gösteren bir molekülün aktivitesi, biyoyararlılığına, kararlılığına, absorpsiyonuna ve çözünürlüğüne bağlıdır. Geniş kapsamlı farmakolojik ve biyolojik aktiviteye sahip olan kurkuminin antioksidan, antikanserojen, anti-inflamatuar, antibakteriyel aktivitelerinin mevcut olduğu gösterilmiştir. Yine yapılan prelinik ve klinik çalışmalarla kurkuminin psikolojik, neoplastik, nörolojik, kardiovasküler, pulmoner, hepatic, safra ve metabolik hastalıklar, diyabetik yaraların iyileşmesi, romatizma dahil pek çok kronik hastalıklara karşı terapötik bir etkisinin olduğu belirtilmiştir. Çeşitli hayvan modelleri ve insan çalışmalarında ise yüksek dozlarda bile oldukça güvenli olduğu kanıtlanmıştır (Aggarwal and Harikumar, 2009; Yadav and Kumar, 2014; Anwar et al., 2014).

Kurkumin (Diferuloylmethane), Turmeric (*Curcuma longa*, Zingiberaceae) bitkisinin köklerinden elde edilen düşük molekül ağırlıklı, sarı renkli hidrofobik polifenoldür. [1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion] kurkuminin kimyasal yapısıdır. Kurkuminin kimyasal yapısı Şekil 1 de gösterilmiştir (Margulis et al., 2014; Kumar et al., 2014).



Şekil 1. Kurkuminin kimyasal yapısı

Ancak kurkuminin biyo aktivitelerinin çeşitliliğine ve hastalıkları önleme ve tedavi etme potansiyeline rağmen düşük çözünürlüğü ve sulu çözeltilerdeki kararsızlığı, yetersiz doku emilimi, alkali pH da degradasyona uğraması, hızlı sistemik eliminasyonu

nedeniyle düşük biyoyararlılık gösterir ve bu nedenle terapötik bir ajan olarak kullanılmasını engelleyen en önemli problemi oluşturur (Aggarwal and Harikumar, 2009; Mohanty and Sahoo, 2010).

Kurkuminin biyoyararlılığını iyileştirmek için çok sayıda yaklaşım kullanılmıştır. Miseller, nanopartiküller, lipozomlar, fosfolipit-kompleksleri, nanojeller, mikrosüngerler, mikroemülsiyonlar, kitosan nanopartikülleri, siklodekstrin kompleksleri, kendiliğinden mikroemülsifiye olabilen ilaç taşıyıcı sistem (SMEDDS) gibi taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir (Yadav et al., 2010; Gao et al., 2011; Li et al., 2013).

Kurkuminin sınırlayıcı etkilerini minimuma indirmek için düşünülen çözüm yollarından birside katı lipit nanopartikül formülasyonları olmuştur. 1990'lı yıllarda mevcut koloidal taşıyıcı sistemlere (emülsiyonlar, lipozomlar, polimerik nanopartiküller) alternatif bir taşıyıcı sistem olarak ortaya çıkan katı lipit nanopartiküller, fizyolojik lipitlerden oluştuğu için oldukça yüksek biyoyoumluluk ve biyobozunurluk buna karşılık düşük sistemik toksisite ve düşük sitotoksisite gösterirler. Organik çözücü kalıntısı içermemesi, geniş ölçekte üretimlerinin mümkün olması, kolay hazırlanma süreci, fiziksel kararlılığı, kararsız ilaçları kimyasal degradasyona karşı koruması ve ilacın kontrollü olarak salınması gibi avantajlara sahip olduğu için KLN'lere olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Rai et al., 2008; Andreozzi et al., 2011; Kathe et al., 2014). Bu sistemlerin radyofarmasi alanına taşınması ise yeni teşhis ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde umut verici bir ışık olarak görünmektedir.

İşte bu noktada yapılan çalışma, lipit nanopartikül ve moleküler görüntüleme teknolojisine dayalı olarak diagnostik alanda özellikle karaciğer-dalak sintigrafisi için yeni bir konsepti tanıtmaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

^{99m}Tc-K-KLN'leri hazırlarken, katı lipid olarak; Compritol® 888 ATO (gliseril behanat), non iyonik sürfaktanlar olarak; Tween 80 (Merck) ve Soya lesitini (Alfasol), etkin madde olarak; kurkumin, radyo nüklid olarak; ^{99m}Tc (Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp A.D.), nanopartiküllerin ^{99m}Tc ile işaretlenmesinde indirgeme ajanı olarak; kalay klorür dihidrat (Merck), tavşanın anestezisi için Ksilazin (Bioveta) ve Ketamin (Pfizer) kullanıldı.

Kurkumin Yüklü Katı Lipit Nanopartiküllerin Hazırlanması

Yapılan bu çalışmada K-KLN hazırlamak için mikroemülsiyon ve düşük-sıcaklıkta katılaştırma yöntemi birlikte kullanıldı. Gerçekleştirilen çalışmada; ilk önce lipitin 80°C'de eritilmesi sağlandı. Bu işlem basamağından sonra eritilmiş lipitin içerisine kurkumin eklendi. Lipit erime sıcaklığında olan hesaplı miktardaki sulu yüzey etkin madde karışımı ise manyetik karıştırıcıda yağ fazına damlatılarak eklendi (Kakkar et al., 2013). Daha sonra oluşan emülsiyon ultrasonikasyon ile homojenize edildi. Sıcak mikro emülsiyon 1300 rpm hızda karıştırma yapan manyetik bir karıştırıcı sayesinde 3-4°C'deki soğuk suya damlatılarak K-KLN'ler oluşturuldu. Oluşturulan K-KLN'ler flakonlara konularak oda sıcaklığında muhafaza edildi.

Partikül boyutunun Belirlenmesi

Hazırlanan K-KLN formülasyonunun partikül boyutu ve dağılımı ölçümleri Laser Diffraction (LD) esasına dayanan Malvern Mastersizer 2000 cihazı kullanılarak analizleri yapıldı. Tüm ölçümler 25°C'de ve 3 kez tekrarlanarak gerçekleştirildi.

TGA analizi

Hazırlanan kurkumin yüklü katı lipit nanopartiküllerin termal stabilitesinin belirlenmesi için Netzsch STA 409 PC Luxx Thermal analyzer cihazı kullanılmıştır. Liyofilizasyon ile toz haline getirilen KLN ve K-KLN'lerin analizleri, boş referansa karşı alümina krozede, 10°C/dak ısıtma hızında, 25°C ile 130°C sıcaklık aralığında, 30 ml/dak akış hızıyla beslenen azot atmosferinde gerçekleştirildi.

Radyoaktif Olarak İşaretleme

K-KLN'nin ^{99m}Tc ile işaretlenmesi, Atatürk Üniversitesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı radyofarmasi laboratuvarında gerçekleştirildi.

Kurkumin yüklü katı lipit nanopartiküller daha önceki çalışmalarda belirtilen metodlara benzer şekilde indirgeme ajanı Kalay Klorür Dihidrat (SnCl₂.2H₂O) kullanılarak Tc-99m ile işaretlendi (Zolle, 2007; Kakkar et al., 2013). Kısaca, 2 mCi perteknatta (TcO₄⁻), 20 µg Kalay Klorür Dihidrat (SnCl₂.2H₂O) eklendi ve solüsyonun pH'sı sodyum bikarbonat ile 6.5'e ayarlandı. Daha sonra bu solüsyona 1 ml K-KLN eklenerek 10

dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. İşaretleme etkinliği silika jel yüklü fiber şeritler (2×8 cm) kullanarak yükselen hazır ince katman kromatografi ile değerlendirildi (Aburahma and Badr-Eldin, 2014). Radyoaktif işaretli kompleks (3µl) ITLC-SG şeridinin alt kısmının 1 cm yukarısına bir insülin şırıngası ile damlatıldı ve mobil faz olarak %100 aseton kullanılmasıyla yaklaşık 7 cm yüksekliğe kadar yürütüldü. ITLC-SG şeridi eşit bir şekilde ortadan ikiye kesildi ve her bir yarımdaki radyoaktivite kuyu tipi bir gama sayacı (Biodex, Atomlab 200 model dosecalibrator) ile sayıldı. Serbest TcO₄⁻ şeridinin alt kısmındaki işaretli kompleksten ayrılarak ön kısma doğru göç eder. Radyoaktif işaretli kompleks ise uygulama noktasında kalır. Perteknatatın indirgenmesi için kullanılan kalay klorürün fazla olması istenmeyen radyokolloid oluşumuna sebep olur. Bu yüzden radyokolloid yüzdesi piridin: asetik asit: su (3:5:1.5) kullanılarak belirlendi. Kolloidler şeridinin alt kısmında kalırken, serbest perteknatat ve işaretli kompleks şeridinin ön kısmına hareket etmiştir. Piridin: asetik asit: su karışımından asetonda göç eden aktivite kısmı çıkarılarak ^{99m}Tc-K-KLN'lerin net miktarı hesaplandı.

Radyoaktif partiküllere ilişkin olarak, ITLC metoduna göre K-KLN'lerin radyoaktif işaretleme etkinliği oda sıcaklığında %90 ± 8 olarak ölçüldü. Bu yüksek işaretleme etkinliği K-KLN'lerin ^{99m}Tc ile etkili bir şekilde bağlandığını göstermektedir.

Gama Sintigrafi Çalışmaları

Görüntüleme çalışmaları için, çalışmada 3.5-4 kg aralığında beyaz Yeni Zelanda erkek tavşanı kullanıldı. Tavşan 12 saat karanlık 12 saat aydınlık siklusuna sahip %45-50 nispi nem miktarı ile birlikte 22 ± 2 °C' deki bir sıcaklıkta ve kontrollü laboratuvar şartlarında muhafaza edildi. Tavşana deney öncesinde özel bir gıda rejimi uygulanmadı ve deney sırasında aç bırakıldı. Deney öncesinde ise standart pelet yem ve musluk suyu ile beslendi. Bu çalışmadaki hayvan araştırmaları Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulunun izni ile yürütüldü (Kayıt numarası: 36643897-51, 2015).

Tavşanda sintigrafi görüntüleme çalışmasında Teknesyum ile işaretli K-KLN'nin canlıdaki organ tutulumu non-invaziv olarak değerlendirildi. Tavşana

uygulanacak ^{99m}Tc ile işaretli K-KLN'lerin aktivitesi yaklaşık 2 mCi'ye ayarlandı. İn vivo çalışmalarda kullanılan K-KLN süspansiyonunun işaretleme etkinliği 95 ± 4% idi. Görüntüleme çalışmalarından önce tavşana 1 ml ketamin ve 1 ml ksilazininin intramusküler enjeksiyonu ile anestezi yapıldı. Hazırlanan ^{99m}Tc-K-KLN tavşana dorsal kulak veninden i.v olarak uygulandı. ^{99m}Tc-K-KLN'nin i.v uygulanmasından sonra tavşan, uygun boyuttaki plakanın üzerine sırt üstü pozisyonda yerleştirildi. İdame doz (başlangıç dozunun 1/3) gerekli olduğunda kullanıldı. İdrar kontaminasyonu önlemek için gerekli önlemler alındı. Düşük enerjili-genel amaçlı bir kolimatör ile uyumlu olan bir gama kamera (Siemens Medical Systems, Inc. Hoffman Estates, IL 60195) tarafından dinamik görüntüler kaydedildi. Dinamik görüntüler için 128×128 matrix kullanıldı.

Ex Vivo Biyodağılım Çalışması

K-KLN'lerin in vivo biyodağılımı i.v enjeksiyondan sonra gama kamera (SPECT) kullanılarak değerlendirildi. Bu değerler organların gama sayacında elde edilen ex vivo biyodağılımı ile karşılaştırıldı. Ex vivo biyodağılım çalışması ^{99m}Tc ile işaretli K-KLN'nin i.v uygulanmasından yaklaşık 4 saat sonra gerçekleştirildi. Tavşan yüksek doz anestezi (100 mg.kg⁻¹) sodyum tiyopental ile sakrifiye edildi. Daha sonra tavşanın ilgili organları çıkarıldı. Doku örnekleri salin ile yıkandı ve tartıldı. Radyoaktivite ^{99m}Tc enerjisi için kalibre edilen kuyu tipi gama sayacında ölçüldü. Sonuçlar i.v uygulamadan sonra yarılanma ömründeki bozunma süresi hesaba katılarak her bir organ için dokunun gram başına enjekte edilen dozun yüzdesi olarak ifade edildi (%ID/g) (Banerjee et al., 2014).

$$\%ID/g \text{ dokunun} = [(\text{örnekdeki sayım}) / (\text{örneğin ağırlığı} \times \text{yarılanma süresi hesaba katılarak hesaplanan toplam sayım})] \times 100$$

K-KLN'lerin Karaciğer ve Dalaktaki Varlığının Histopatolojik Olarak İncelenmesi

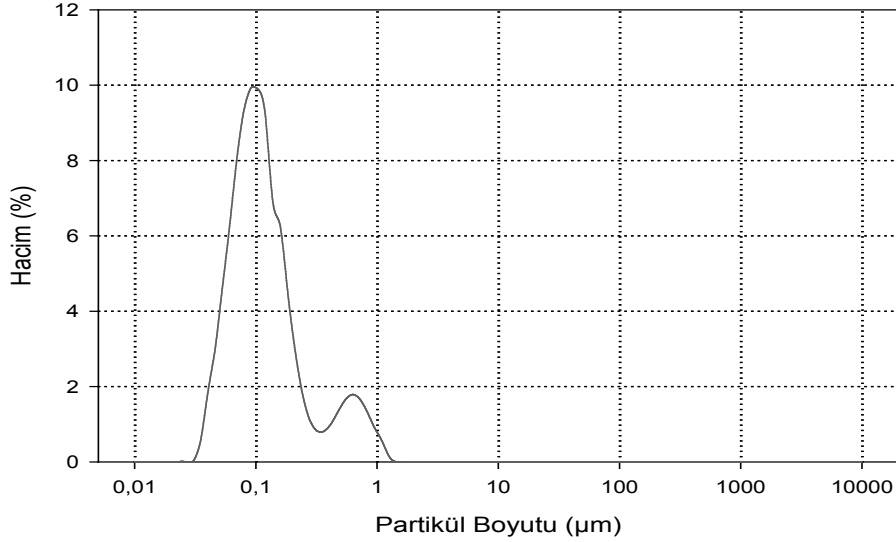
Biyodağılımı incelenen tavşanda en fazla tutulumun olduğu tespit edilen karaciğer ve dalaktan doku örnekleri alınarak donduruldu ve donuk kesit örnekleri floresan (Zeiss Imager-D2, ×400) altında incelendi.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Partikül boyut dağılımı ve TGA analizi

Partikül boyutu ve boyut dağılımı, koloidal taşıyıcı sistemlerin fizikokimyasal özelliklerinin

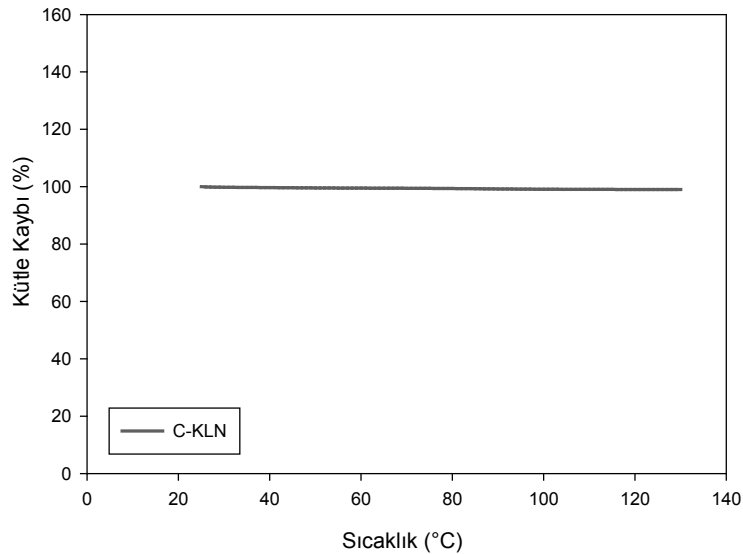
belirlenmesinde kullanılan en önemli verilerden birisidir. Özellikle süspansiyon ve emülsiyon gibi taşıyıcı sistemlerin, fiziksel-kimyasal kararlılığı ve etkinlik açısından başarılı formülasyonu, ürünün partikül boyutuna bağlıdır.



Şekil 2. K-KLN'nin hacimsel boyut dağılımı

Lazer kırınım verileri hacim dağılımına göre belirtilir. Formülasyonun partikül boyutu ise $LD_{10^{750}90}$ (laser diffraction) çap değerlerine bakılarak yorumlanır. Yani, LD_{50} değeri $1\mu m$ olarak ölçülmüşse bunun anlamı, tüm partiküllerin %50'si $1\mu m$ ve $1\mu m$ 'den daha az bir boyuta sahiptir denilebilir. Şekil 2'deki

partikül boyut analizi incelendiğinde LD_{10} değerinin $0,061\mu m$, LD_{50} değerinin $0,115\mu m$ ve LD_{90} değerinin $0,504\mu m$ olduğu gözlemlenmiştir. Buna bağlı olarak partiküllerin %90'ından daha fazlasının 504 nm den daha küçük olduğu ve bu partiküllerin %90'nının kolloidal boyutlara sahip olduğu saptanmıştır. ($<1\mu m$).



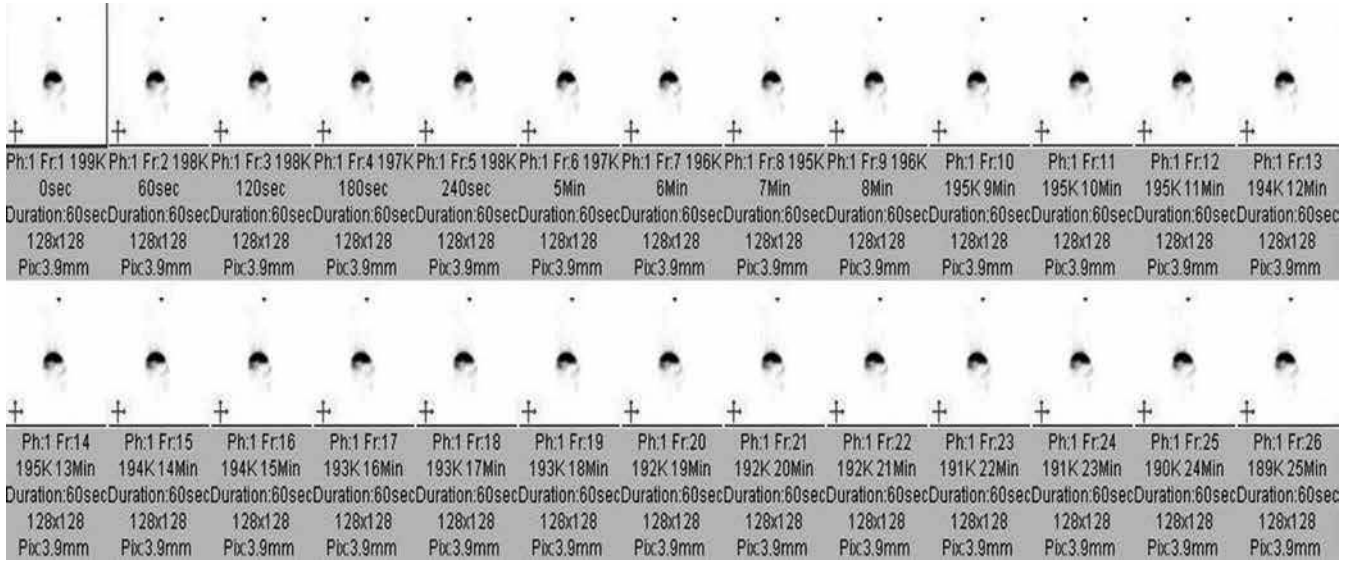
Şekil 3. K-KLN'nin termogravimetrik analizi

Katı lipid nanopartikül formülasyonu yüksek sıcaklıklar da hazırlandığı için bu partiküllere yüklenen kurkuminin termal stabilitesini belirlemek amacıyla TGA analizi yapıldı. Şekil 3'te görüldüğü gibi, TGA analiz sonucuna göre 25°C ile 130°C arasında herhangi bir kütle kaybının olmaması katı lipid nanopartikül formülasyonunda ki kurkuminin sıcaklığa karşı stabilitesini koruduğu yorumu yapılabilir.

Gama Sintigrafi ve Biyodağılım Çalışması

Tavşanlara $^{99m}\text{Tc-K-KLN}$ 'nin intra venöz uygulamasından sonra gama kamera ile görüntüleri alındı. Dinamik görüntüler değerlendirilip, radyoaktivite tutulumu gösteren bölgeler belirlendi. Dinamik görüntüler Şekil 4'te verildi.

Şekil 4 incelendiğinde kalp ve akciğerler ile karaciğer, dalak, böbrekler ve mesanede tutulumların olduğu görülmektedir.



Şekil 4. $^{99m}\text{Tc-K-KLN}$ 'nin tavşana i.v enjeksiyonundan sonra çekilen dinamik görüntüler

Çizelge 1. Tavşanda $^{99m}\text{Tc-K-KLN}$ 'nin biyodağılımı

Organ	% ID Organ ⁻¹	%ID g ⁻¹
Dalak	1.19	0.61
Karaciğer	43.56	0.67
Böbrekler	2.28	0.08
Kemik	0.49	0.04

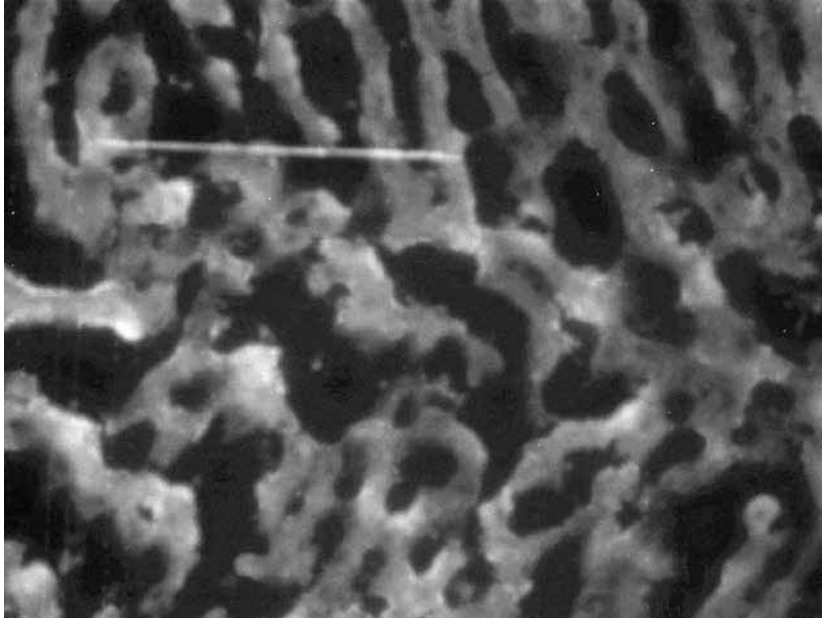
i.v enjeksiyondan 4 saat sonra sakrifiye edilen tavşandaki $^{99m}\text{Tc-K-KLN}$ 'nin organ dağılımı Çizelge 1'de sunulmuştur. i.v enjeksiyondan 4 saat sonra sakrifiye edilen tavşandan alınan karaciğer (%0.67) ve dalak (%0.61) dokularında gram başına düşen aktivitenin olması koloidal partiküllerin önemli bir kısmının tutulum gösterdiğini destekler. Bu organlarda kaydedilen radyoaktivitenin retikuloendotelial sistem (RES) hücreleri tarafından alınan tutulumdan dolayı olduğu söylenebilir.

Tavşandaki ex vivo biyodağılımı incelendiğinde asıl tutulum gösteren organların karaciğer ve dalak olduğu görülmektedir. Böbreklerde ve mesanede tutulumun olması, $^{99m}\text{Tc-K-KLN}$ 'lerin böbrekler ve mesane yoluyla atılması nedeniyle fizyolojik tutulum lehine yorumlanmaktadır. Yani $^{99m}\text{Tc-K-KLN}$ 'nin temizlenme rotasının böbrekler ve hepatobilyer sistem yoluyla olduğu söylenebilir. Yapılan ex vivo biyodağılım çalışmasında tiroid ya da midede $^{99m}\text{Tc-K-KLN}$ 'nin önemli bir aktivitesinin görülmemesi

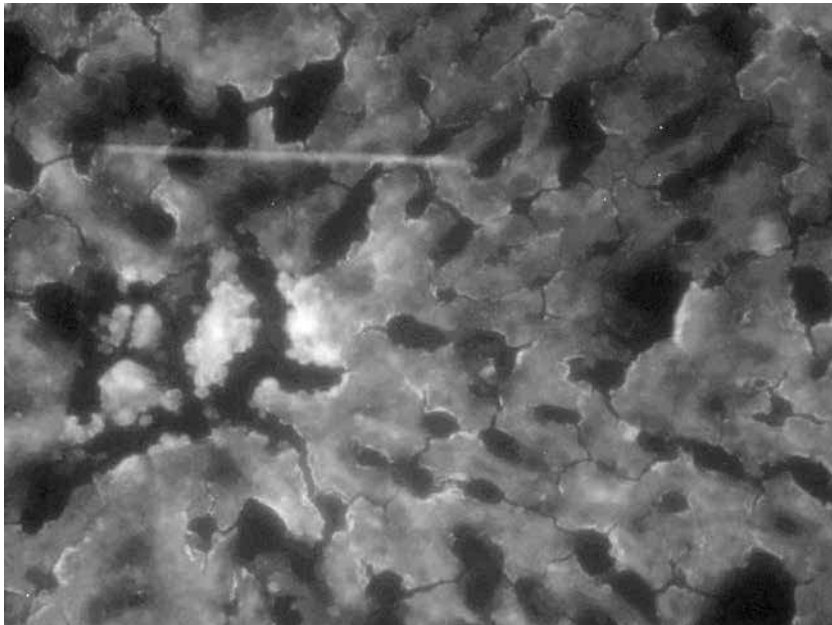
bu çalışmada özetlenen işaretleme prosedürün kullanımı ile birlikte $^{99m}\text{Tc-K-KLN}$ 'nin in vivo stabilitesinin iyi olduğunu gösterir. Ayrıca kemikte (%0.04) aktivitenin olması bu partiküllerin küçük bir kısmının kemik iliği tarafından tulumun olduğuna işaret eder. Akciğerlerde tutulumun gözlemlenmesi partikül boyutuyla alakalı olabilir. Çünkü kılcal damar

boyutları katı lipit partiküllerin geçişini engelleyebilir. Ancak deney hayvanının, sakrifiye edilene kadarki süreçte herhangi bir sorun yaşamaması, K-KLN'lerin kılcal damarlara takılsa bile emboliye neden olmadığı kanısını oluşturur. Sonuç olarak ex vivo biyodağılım çalışmasındaki sonuçlar sintigrafik görüntülerle paralellik göstermektedir.

Floresan Mikroskop Çalışması



Şekil 5. $^{99m}\text{Tc-K-KLN}$ 'nin i.v enjeksiyondan sonra alınan tavşan donuk kesit dalak örneğinin floresan mikroskop görüntüsü ($\times 400$)



Şekil 6. $^{99m}\text{Tc-K-KLN}$ 'nin i.v enjeksiyondan sonra alınan tavşan donuk kesit karaciğer örneğinin floresan mikroskop görüntüsü ($\times 400$)

Dinamik görüntülerde ^{99m}Tc -K-KLN'nin karaciğer ve dalaktaki tutulumunun artarak devam etmesi ve daha sonra sakrifiye edilen tavşanın karaciğer ve dalak dokularının floresan mikroskobu ile histopatolojik olarak inceleme sonuçları birlikte değerlendirildiğinde kurkumin yüklü katı lipit nanopartiküllerin intravenöz uygulanmasıyla birlikte bozulmadan karaciğere ve dalağa etkili bir geçiş gösterdiği saptanmıştır. Şekil 5 ve Şekil 6'da ^{99m}Tc ile işaretli K-KLN'nin tavşan karaciğer ve dalağa geçişi görüntülenmektedir. Bu görüntüler ise sintigrafik bulgularla paralellik göstermektedir.

Özetle bu çalışma; KLN'lerin seçici olarak karaciğer ve dalağa ilaç taşıyıcı bir potansiyelinin olduğunu ve karaciğer-dalak sintigrafisi için ^{99m}Tc ile işaretli C-KLN'lerin kullanılabilirliğini göstermektedir.

SONUÇ

K-KLN'lerin nükleer tıpta teşhis amaçlı özellikle de karaciğer-dalak sintigrafisinde kullanılabilirliğini konu alan bu çalışmada; K-KLN'ler başarılı bir şekilde hazırlandı ve ^{99m}Tc ile radyoaktif olarak işaretlendi. Yapılan in vivo ve ex vivo çalışmalar K-KLN'lerin karaciğer ve dalakta etkin bir şekilde lokalize olduğunu gösterdi. Sintigrafik olarak karaciğer-dalak görüntüleri elde edildi. Floresan mikroskobu ile de histopatolojik olarak karaciğer ve dalağa geçiş tespit edilerek bulgular desteklendi. Bu nedenle elde edilen sonuçlar, K-KLN'lerin karaciğeri-dalak görüntüleme kullanılabilir potansiyelinin olduğunu gösterdi.

KAYNAKLAR

- Aburahma MH, Badr-Eldin SM, 2014. Compritol 888 ATO: a multifunctional lipid excipient in drug delivery systems and nanopharmaceuticals. *Expert Opin Drug Deliv*, 11: 1865-83.
- Aggarwal BB, Harikumar KB, 2009. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *Int J Biochem Cell Biol*, 41: 40-59.
- Andreozzi E, Seo JW, Ferrara K, Louie A, 2011. Novel method to label solid lipid nanoparticles with ^{64}Cu for positron emission tomography imaging. *Bioconjug Chem*, 22: 808-18.
- Anwar M, Asfer M, Prajapati AP, Mohapatra S, Akhter S, Ali A, Ahmad, FJ, 2014. Synthesis and in vitro localization study of curcumin-loaded SPIONs in a micro capillary for simulating a targeted drug delivery system. *Int J Pharm*, 468: 158-64.
- Banerjee I, De K, Chattopadhyay S, Bandyopadhyay AK, Misra M, 2014. An easy and effective method for radiolabelling of solid lipid nanoparticles. *J Radioanal Nucl Chem*, 302:837-843.
- Gao Y, Li Z, Sun M, Guo C, Yu A, Xi Y, Cui J, Lou H, Zhai G, 2011. Preparation and characterization of intravenously injectable curcumin nanosuspension. *Drug Deliv*, 18: 131-42.
- Kakkar V, Mishra AK, Chuttani K, Kaur IP, 2013. Proof of concept studies to confirm the delivery of curcumin loaded solid lipid nanoparticles (C-SLNs) to brain. *Int J Pharm*, 448: 354-9.
- Kakkar V, Muppu SK, Chopra K, Kaur IP, 2013. Curcumin loaded solid lipid nanoparticles: an efficient formulation approach for cerebral ischemic reperfusion injury in rats. *Eur J Pharm Biopharm*, 85: 339-45.
- Kathe N, Henriksen B, Chauhan H, 2014. Physicochemical characterization techniques for solid lipid nanoparticles: principles and limitations. *Drug Dev Ind Pharm*, 40: 1565-75.
- Kumar SS, Mahesh A, Mahadevan S, Mandal AB, 2014. Synthesis and characterization of curcumin loaded polymer/lipid based nanoparticles and evaluation of their antitumor effects on MCF-7 cells. *Biochim Biophys Acta*, 1840: 1913-22.
- Li B, Konecke S, Wegiel LA Taylor, LS, Edgar KJ, 2013. Both solubility and chemical stability of curcumin are enhanced by solid dispersion in cellulose derivative matrices. *Carbohydr Polym*, 98: 1108-16.
- Margulis K, Magdassi S, Lee HS, Macosko, CW, 2014. Formation of curcumin nanoparticles by flash nanoprecipitation from emulsions. *J Colloid Interface Sci*, 434: 65-70.
- Mohanty C, Sahoo SK, 2010. The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation. *Biomaterials*, 31: 6597-611.
- Rai S, Paliwal R, Gupta PN, Khatri K, Goyal AK, Vaidya B, Vyas, SP, 2008. Solid lipid nanoparticles (SLNs) as a rising tool in drug delivery science: One step up in nanotechnology. *Current Nanoscience*, 4: 30-44.
- Saha GB. 2010. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. Sixth Edition, Springer Science & Business Media, USA. 83 p.
- Yadav D, Kumar N, 2014. Nanonization of curcumin by antisolvent precipitation: process development, characterization, freeze drying and stability performance. *Int J Pharm*, 477: 564-77.
- Yadav VR, Prasad S, Kannappan R, Ravindran J, Chaturvedi MM, Vaahtera L, Parkkinen J, Aggarwal BB, 2010. Cyclodextrin-complexed curcumin exhibits anti-inflammatory and antiproliferative activities superior to those of curcumin through higher cellular uptake. *Biochem Pharmacol*, 80: 1021-32.
- Zolle I 2007. *Technetium-99m Pharmaceuticals: Preparation And Quality Control In Nuclear Medicine*. Springer, Berlin. 123-149 p.