

## Método Cintilográfico Não Invasivo para Estudo de Biodistribuição de Radiofármacos

Érika V. Almeida<sup>1</sup>, Natanael G. Silva<sup>1</sup>, Antônio C. Freire<sup>1</sup>, Elisiane de G. Monteiro<sup>1</sup>, Stella Benedetti<sup>1</sup>, Emiko Muramoto<sup>1</sup>, Neuza T. O. Fukumori<sup>1</sup>, Margareth M. N. Matsuda<sup>1</sup> e Marina B. A. Vasconcellos<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Diretoria de Radiofarmácia (DIRF)- IPEN-CNEN/SP, Brasil

<sup>2</sup>Centro do Reator de Pesquisa (CRPq)- IPEN-CNEN/SP, Brasil

**Resumo.** Os estudos de biodistribuição podem ser efetuados por métodos invasivos ou não invasivos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a porcentagem de dose retida (DR) nos órgãos de interesse por método não invasivo e invasivo em estudo de biodistribuição de DMSA-<sup>99m</sup>Tc (ácido dimercaptosuccínico), MAA-<sup>99m</sup>Tc (macro agregado de soro albumina humano) e MDP-<sup>99m</sup>Tc (metilenodifosfato de sódio) e comparar com o método invasivo descrito na farmacopéia americana (USP). Reagentes liofilizados (DMSA, MAA e MDP) e pertecnetato de sódio foram obtidos do IPEN-CNEN/SP. A concentração radioativa foi 123 MBq mL<sup>-1</sup> (DMSA-<sup>99m</sup>Tc e MAA-<sup>99m</sup>Tc) e 617 MBq mL<sup>-1</sup> (MDP-<sup>99m</sup>Tc). DMSA-<sup>99m</sup>Tc e MDP-<sup>99m</sup>Tc foram injetados via veia caudal e MAA-<sup>99m</sup>Tc pela veia peniana de ratos *Wistar*. As imagens cintilográficas foram obtidas em gama câmara Nucline TH/22 Mediso. Os animais foram sacrificados após a aquisição das imagens. Os órgãos foram retirados e a atividade de cada um dos órgãos de interesse foi medida em câmara de ionização. A captação renal de DMSA-<sup>99m</sup>Tc pelo método não invasivo variou de (47,02 ± 2,87)% a (49,37 ± 3,41)%. Pelo método invasivo foi observada DR de (49,27 ± 1,88)%. A %DR de MAA-<sup>99m</sup>Tc nos pulmões pelo método não invasivo variou de (94,22 ± 0,17)% a (94,67 ± 0,25)%. A cintilografia óssea com MDP-<sup>99m</sup>Tc mostrou captação expressiva no esqueleto. O método cintilográfico não invasivo proposto para estudo de biodistribuição de radiofármacos mostrou-se viável, apresentando resultados comparáveis aos obtidos pelo método invasivo descrito na USP.

**Palavras-chave:** método não invasivo, método invasivo, biodistribuição, radiofármacos.

## Non-Invasive Scintigraphic Method for Study of Biodistribution of the Radiopharmaceuticals

**Abstract.** Biodistribution studies can be done by invasive or noninvasive methods. The aim of this study was to evaluate the percentage of retained dose (RD) in the organs of interest in noninvasive and invasive study of biodistribution of <sup>99m</sup>Tc-DMSA (dimercaptosuccinic acid), <sup>99m</sup>Tc-MAA (macro aggregated human serum albumin) and <sup>99m</sup>Tc-MDP (methylene diphosphonate) and to compare with the invasive method described in the United States Pharmacopoeia (USP). Lyophilized reagents (DMSA, MAA and MDP) and sodium pertechnetate were obtained from IPEN-CNEN/SP. The radioactive concentration was 123 MBq mL<sup>-1</sup> (<sup>99m</sup>Tc-DMSA and <sup>99m</sup>Tc-MAA) and 617 MBq mL<sup>-1</sup> (<sup>99m</sup>Tc-MDP). <sup>99m</sup>Tc-DMSA and <sup>99m</sup>Tc-MDP were injected via the tail vein and <sup>99m</sup>Tc-MAA in the penile vein of rats. The scintigraphic images were obtained in a Nucline TH/22 Mediso gamma camera. The animals were sacrificed after the acquisition of images. The organs were removed and the activity of each organ of interest was measured in an ionization chamber. The renal uptake of <sup>99m</sup>Tc-DMSA by noninvasive method was (47,02 ± 2,87)% up to (49,37 ± 3,41)%. By the invasive method it was observed RD (49.27 ± 1.88)%. The %RD of <sup>99m</sup>Tc-MAA in the lungs by non-invasive method varied from (94,22 ± 0,17)% to (94,67 ± 0,25)%. Bone scintigraphy with <sup>99m</sup>Tc-MDP showed significant uptake in the skeleton. The method proposed for noninvasive scintigraphic study biodistribution of radiopharmaceuticals was feasible, with results comparable to those obtained by invasive method described in USP.

**Keywords:** noninvasive method, invasive method, biodistribution, radiopharmaceuticals.

## 1. Introdução

Os estudos de biodistribuição são realizados para avaliação do radiofármaco *in vivo* previamente à administração em pacientes. A biodistribuição pode ser efetuada por método invasivo, envolvendo o sacrifício de animais e medida da radioatividade nos órgãos e tecidos de interesse ou por métodos não invasivos (realização de imagens) [1, 2].

As Farmacopéias Americana (USP) e Européia recomendam que os ensaios de controle de qualidade biológicos para radiofármacos sejam realizados por métodos invasivos [3, 4]. Entretanto, esses métodos consomem muito tempo e aumentam a exposição do trabalhador à radiação ionizante [1].

O método não invasivo pode ser realizado por meio de imagens denominadas cintilografias obtidas em câmaras de cintilação. A presença do radiofármaco observada através da cintilografia em um determinado órgão reflete sua morfologia e função. Através da imagem cintilográfica é possível delimitar a região de interesse (ROI), que fornece a porcentagem de dose retida (%DR) no órgão específico selecionado [1, 2].

DMSA-<sup>99m</sup>Tc (ácido dimercaptosuccínico) é utilizado para o estudo morfológico do córtex renal e avaliação da função renal individual [2, 5]. MAA-<sup>99m</sup>Tc (macro agregado de soro albumina humano) é um radiofármaco utilizado em cintilografia pulmonar para diagnóstico de diversas doenças, a saber: embolias, enfisema, carcinoma brônquico e avaliação do grau de vascularização do parênquima (trombose) [2, 5]. MDP-<sup>99m</sup>Tc (metilendifosfato de sódio) é utilizado no diagnóstico e avaliação de diversas patologias osteoarticulares, tais como tumores ósseos primários e secundários, metástases ósseas e outras enfermidades de origem metabólica, traumatismos e fraturas por stress [5].

O objetivo deste trabalho foi avaliar a porcentagem de dose retida nos órgãos de interesse por método não invasivo e invasivo em estudo de biodistribuição dos radiofármacos DMSA-<sup>99m</sup>Tc, MAA-<sup>99m</sup>Tc e MDP-<sup>99m</sup>Tc e comparar com os resultados obtidos por método invasivo descrito na farmacopéia americana.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Materiais

Reagentes liofilizados (DMSA, MAA e MDP) e pertecnetato de sódio (Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>) foram obtidos do IPEN-CNEN/SP (Brasil). A uretana foi obtida da Sigma Aldrich (Estados Unidos).

### 2.2. Marcação dos Reagentes Liofilizados e Administração dos Radiofármacos

Todos os reagentes liofilizados foram marcados com 3 mL de Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub> e a concentração radioativa foi 123 MBq mL<sup>-1</sup> para

DMSA e MAA e 617 MBq mL<sup>-1</sup> para MDP. O tempo de reação para DMSA e MAA foi 30 minutos e para MDP foi de 15 minutos. DMSA e MDP foram injetados via veia caudal e MAA pela veia peniana.

### 2.3. Método não invasivo

Ratos *Wistar* (200- 250 g), obtidos do biotério do IPEN-CNEN/SP, foram anestesiados e as imagens foram adquiridas 60 minutos (DMSA e MDP) e 10 minutos (MAA) após a administração da dose.

#### 2.3.1. Aquisição de imagem

As imagens cintilográficas foram obtidas em gama câmara (Gamma Câmara Nucline TH/22 Mediso) com colimador paralelo de baixa energia (*LEHR- Low Energy High Resolution*). A orientação e o tempo de aquisição das imagens foram 90° e 180 segundos, respectivamente. O tamanho da matriz foi (256 x 256 x 16) mm. A largura da janela do analisador de altura de pulsos foi 20%.

Os ROI's e as atividades nos órgãos (%DR) foram obtidos utilizando-se software Mediso Interview XP v1.05.014.

### 2.4. Método invasivo

Os animais foram sacrificados após a aquisição das imagens. Os órgãos foram retirados e a atividade de cada um dos órgãos de interesse foi medida em câmara de ionização Capintec modelo CRC-15R. Os resultados foram expressos como % de dose injetada (%DI) nos diferentes órgãos, calculados conforme a Equação 1.

$$\% DI_{\text{órgão}} = \frac{A(\text{órgão})}{DI_{\text{total}} - A(\text{perdas})} \times 100 \quad (1)$$

Onde  $DI_{\text{total}}$  é a atividade no momento da medição do órgão e A é atividade.

%DI foi convertida em %DR utilizando-se a Equação 2.

$$\% DR = \frac{\% DI(\text{órgão})}{\sum \% DI(\text{órgão})} \times 100 \quad (2)$$

Os ensaios foram realizados em triplicata (3 animais para cada radiofármaco) e os resultados foram expressos como (média ± desvio padrão).

## 3. Resultados

A Figura 1 mostra as imagens cintilográficas em rato *Wistar* após administração de DMSA-<sup>99m</sup>Tc, MAA-<sup>99m</sup>Tc e MDP-<sup>99m</sup>Tc.

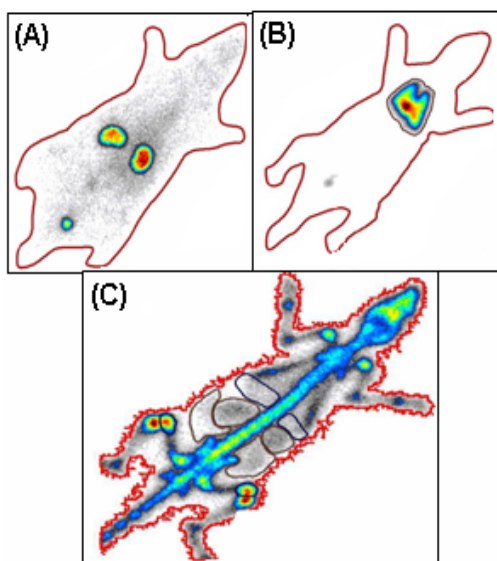


Figura 1. Imagens cintilográficas de rato *Wistar* com (A) DMSA-<sup>99m</sup>Tc, (B) MAA-<sup>99m</sup>Tc e (C) MDP-<sup>99m</sup>Tc.

As Tabelas 1 e 2 apresentam os resultados de %DR para os radiofármacos DMSA-<sup>99m</sup>Tc, MAA-<sup>99m</sup>Tc e MDP-<sup>99m</sup>Tc obtidas pelo método não invasivo e invasivo, respectivamente.

Tabela 1. Dose retida para DMSA-<sup>99m</sup>Tc, MAA-<sup>99m</sup>Tc e MDP-<sup>99m</sup>Tc pelo método não invasivo.

| Produto                 | Órgão     | %DR                 |        |        |
|-------------------------|-----------|---------------------|--------|--------|
|                         |           | Ampliação da Imagem |        |        |
|                         |           | 0                   | 2x     | 4x     |
| DMSA- <sup>99m</sup> Tc | Rins      | 49,37               | 48,31  | 47,02  |
|                         |           | ± 3,41              | ± 2,88 | ± 2,87 |
| MAA- <sup>99m</sup> Tc  | Pulmões   | 94,67               | 94,49  | 94,22  |
|                         |           | ± 0,25              | ± 0,27 | ± 0,17 |
| MDP- <sup>99m</sup> Tc  | Fêmur     | 1,32                | 1,53   | 1,31   |
|                         |           | ± 1,70              | ± 1,93 | ± 0,08 |
|                         | Fígado    | 4,66                | 4,25   | 4,75   |
|                         |           | ± 0,35              | ± 1,35 | ± 0,06 |
|                         | Intestino | 1,35                | 1,46   | 1,55   |
|                         | ± 0,35    | ± 0,31              | ± 0,12 |        |
|                         | Rins      | 2,60                | 2,53   | 2,37   |
|                         |           | ± 0,86              | ± 0,55 | ± 0,13 |

Tabela 2. Dose retida para DMSA-<sup>99m</sup>Tc, MAA-<sup>99m</sup>Tc e MDP-<sup>99m</sup>Tc pelo método invasivo.

| Produto                 | Órgão     | %DR          |
|-------------------------|-----------|--------------|
| DMSA- <sup>99m</sup> Tc | Rins      | 49,27 ± 1,88 |
| MAA- <sup>99m</sup> Tc  | Pulmões   | 97,69 ± 2,00 |
| MDP- <sup>99m</sup> Tc  | Fêmur     | 2,37 ± 0,19  |
|                         | Fígado    | 0,82 ± 0,07  |
|                         | Intestino | 2,02 ± 0,18  |
|                         | Rins      | 1,26 ± 0,06  |

#### 4. Discussão e Conclusões

A captação renal de DMSA-<sup>99m</sup>Tc pelo método não invasivo (Figura 1A) variou de  $(47,02 \pm 2,87)\%$  a  $(49,37 \pm 3,41)\%$ . A ampliação da imagem cintilográfica para melhor visualização dos órgãos dos ROI's diminuiu a DR em 2,5%. (Tabela 1). Pelo método invasivo (Tabela 2) foi observada dose retida de  $(49,27 \pm 1,88)\%$ . Os resultados encontrados para ambos os métodos estão acima do valor mínimo de aceitação descrito na USP (%DR nos rins  $\geq 40\%$ ) [3].

A ampliação da imagem cintilográfica em até 4x para obtenção da %DR nos pulmões para MAA-<sup>99m</sup>Tc não apresentou mudança significativa na %DR (0,20%) (Tabela 1).

O método invasivo apresentou captação pulmonar de MAA-<sup>99m</sup>Tc (Tabela 2) de até 3,5% maior comparada com o método não invasivo. O limite de aceitação descrito na USP de captação pulmonar é  $\geq 80\%$ .

A cintilografia óssea com MDP-<sup>99m</sup>Tc (Figura 1C) mostrou captação expressiva no esqueleto e baixa captação no fígado, intestino e rins. A soma das %DR desses órgãos foi inferior a 9% em todas as imagens analisadas (0, 2x e 4x ampliação) (Tabela 1).

O fêmur é a ossatura representante do esqueleto e segundo a USP deve apresentar %DR mínima de 1% [3]. A Tabela 1 mostra que o valor mínimo encontrado pelo método não invasivo foi  $(1,31 \pm 0,08)\%$ , atendendo ao limite estabelecido.

Os rins são a via principal de eliminação do MDP-<sup>99m</sup>Tc e o limite superior de aceitação é de 5% DR [3]. Os valores encontrados variaram de 1,26%, para o método invasivo, a 2,60%, para o método não invasivo sem ampliação da imagem para determinação dos ROI's.

O fígado é um órgão cujo limite de aceitação em MDP-<sup>99m</sup>Tc estabelecido pela USP é de no máximo 5%DR. Ambos os métodos mostraram resultados abaixo desse limite.

A %DR no fígado obtida pelo método não invasivo foi até 6 vezes superior ao valor de DR obtida pelo método invasivo. Isso pode ser explicado pelo fato do fígado estar protegido na base da caixa torácica e sob o diafragma, que serve de divisor entre essas duas estruturas (torácica e abdominal). Na obtenção das imagens cintilográficas, a projeção refletida da região hepática tende a mostrar-se mais ativa, em virtude da sobreposição desses componentes [1, 2].

Os valores encontrados no método invasivo (Tabela 2) estão abaixo dos limites estabelecidos pela USP [3].

O método cintilográfico não invasivo proposto para estudo de biodistribuição de radiofármacos marcados com tecnécio mostrou-se viável, apresentando resultados comparáveis aos obtidos pelo método invasivo descrito na USP.

### **Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro concedido à Érika V. Almeida, ao IPEN e à DIRF pela infra-estrutura.

### **Referências**

1. Early PJ & Sodee BD. Principles and practice of nuclear medicine. 2 ed Mosby Year Book, Inc, London, 1995.
2. Owunwanne A, Patel M and Sadek S. The Handbook of Radiopharmaceuticals. Chapman and Hall Medical, Madras, 1995.

3. [USP] United States Pharmacopoeia, 32 ed. United States Pharmacopoeial Convention, Rockville, 2009.
4. European Pharmacopoeia, 5 ed., Strasbourg, Council of Europe, 2008.
5. Saha, G.B. Fundamentals of Nuclear Pharmacy, 4<sup>a</sup> Ed. Springer, New York, 1998.

### **Contato:**

Érika Vieira de Almeida.

*E-mail:* erikavieira@usp.br