

AVALIAÇÃO DO DANO CELULAR INDUZIDO PELO ^{153}Sm - EDTMP EM PACIENTES COM METÁSTASE ÓSSEA

da Silva, M.A*; Nascimento, P.A.*, Suzuki, M.F.*, Oliveira, E.M.*, Rogero, J.R.*;
Guimarães, M.I.C.C.**; Buchpiguel, C.A.**; Okazaki, K.*

*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP
Caixa Postal 11049
05422-970, São Paulo, Brasil
masilva@net.ipen.br

** Centro de Medicina Nuclear - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
miguima@br2001.com.br

RESUMO

O ^{153}Sm é um radionuclídeo com meia vida física de 46,8 horas, emissor de partículas β (72%) com $E_{\text{média}}$ de 290 keV e de raios γ (28%) de 103 keV. Em virtude de suas características físico e radioquímicas, o ^{153}Sm -EDTMP tem sido utilizado como um radiofármaco terapêutico adequado para aliviar a dor de pacientes com metástases ósseas. O objetivo do trabalho é averiguar os efeitos do ^{153}Sm -EDTMP em linfócitos sanguíneos, uma vez que não existem informações sobre os efeitos citogenéticos da partícula β do ^{153}Sm . Para tanto, as amostras sanguíneas foram obtidas de 3 pacientes com adenocarcinoma de próstata, sendo que um deles havia sido submetido ao tratamento radioterápico. As amostras sanguíneas (5mL) foram coletadas antes e uma hora após a administração endovenosa de ^{153}Sm -EDTMP. As células foram processadas para a análise de aberrações cromossômicas. Os resultados mostraram que o número de aberrações/célula foi mais elevado nas amostras processadas 1 hora após a administração de ^{153}Sm -EDTMP. No entanto, a análise de um número maior de doadores se faz necessária para que haja significância estatística na avaliação dos efeitos citogenéticos do ^{153}Sm e para o estabelecimento de conduta terapêutica no acompanhamento dos pacientes quanto as doses e a frequência das aplicações.

Palavras-chave: ^{153}Sm -EDTMP, câncer ósseo, aberrações cromossômicas, partícula β

I. INTRODUÇÃO

O câncer de próstata é a segunda causa mais freqüente de morte entre os homens. Na última década a incidência de câncer de próstata aumentou cerca de 500% e as mortes se elevaram em 40% [1].

Muito da morbidade e mortalidade associada ao câncer pode ser atribuída às metástases ósseas. Qualquer aperfeiçoamento no tratamento eficaz para alívio da dor óssea metastática, representa uma vantagem significativa no sentido de oferecer uma melhor qualidade de vida aos pacientes com malignidade avançada [2].

As metástases ósseas podem ser originadas de vários tipos de tumores primários, mas particularmente os

de pulmão (36%), de próstata (50%) e de mama (50-75%) representam uma incidência significativa.

Assim sendo, uma série de tratamentos contra a metástase óssea ou para o alívio da dor decorrente desta têm sido adotados. Dentre estes, a irradiação externa é considerada uma terapia adequada para aliviar a dor de metástases isoladas. Embora as metástases ósseas disseminadas têm sido tratadas com irradiação externa de corpo parcial ou inteiro com algum sucesso, a irradiação adicional é indesejável e potencialmente mielossupressora.

A utilização de quimio e/ou hormonoterapia para o alívio da dor óssea é bem aceita, mas sua duração é curta e limitada, podendo induzir alterações fisiológicas de conseqüências imprevisíveis [3].

Em virtude de suas características físicas e radioquímicas, o complexo $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ tem sido apontado como um radiofármaco terapêutico promissor no tratamento de pacientes com dor óssea resultante de metástases ósseas provenientes de câncer primário de mama e de próstata. O ^{153}Sm apresenta uma meia vida física curta que permite um manuseio eficiente e possibilita sua administração em doses múltiplas (fracionadas). O ^{153}Sm forma um complexo estável que é resistente à hidrólise e degradação *in vivo*: o complexo permanece no esqueleto por um período de tempo longo o suficiente para permitir a desintegração do radionuclídeo. A energia média da partícula β do ^{153}Sm (290 keV) é suficientemente energética para depositar uma dose alta de radiação ao tumor com menos danos à medula óssea devido ao seu pequeno alcance no tecido (3mm). Também possui 103 keV de emissão γ (29,8%) o que permite uma imagem cintilográfica utilizada como monitor da distribuição no corpo [3, 4, 5, 6].

Pela sua importância médica e social, estudos com $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ têm tratado diversos aspectos, por exemplo, aplicações clínicas [4], farmacocinética [6], toxicidade [7], biodistribuição [8] e enfoque dosimétrico [9]. Assim sendo, é de grande interesse analisar o efeito do ^{153}Sm em nível celular quando da sua administração em indivíduos com dor óssea.

Há vários anos, os danos cromossômicos induzidos pelas radiações X [10], γ [11], nêutrons [12] e partículas α [13] em células humanas tem sido pesquisados por vários autores. Contudo, no que tange aos efeitos citogenéticos da partícula β do ^{153}Sm nada tem sido feito. Podemos citar, no entanto, alguns trabalhos publicados por HALL & WELL [14], MILL *et al.* [15], VULPIS [16] e TANAKA *et al.* [17] que analisaram efeitos citogenéticos da partícula β do $^{90}\text{Sr/Y}$ e da água triciada em linfócitos humanos.

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado como um ensaio preliminar na tentativa de averiguar os efeitos citogenéticos do ^{153}Sm em linfócitos periféricos de pacientes com metástase óssea, por meio da técnica de aberrações cromossômicas.

II. MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizadas amostras sanguíneas de três pacientes com adenocarcinoma de próstata (JBS, 87 anos; WG, 67 anos e MV, 88 anos) cedidas pelo Centro de Medicina Nuclear da FMUSP, sendo que um deles (MV) havia sido submetido ao tratamento radioterápico no total de 10 sessões numa fonte de ^{60}Co (doses fracionadas de 300 cGy), 3 meses antes da administração do $^{153}\text{Sm-EDTMP}$.

Os doadores foram submetidos a um questionário para coleta de dados complementares como hábitos alimentares, estilo de vida, natureza do câncer, entre outros.

Para a observação dos danos cromossômicos *in vivo* foi efetuada a cultura convencional de linfócitos sanguíneos periféricos onde a amostra foi retirada por punção venosa antes (basal) e 1 hora após a administração endovenosa do $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ (37MBq/Kg de peso corpóreo). As amostras foram cultivadas em meio de cultura MEM, suplementado com soro fetal bovino (SFB) para o crescimento celular, fitohemaglutinina para estimular a divisão celular e BrdU para detecção das células na 1ª divisão mitótica após a ação da radiação ionizante. Após 46 h do início do cultivo foi adicionada colchicina para a obtenção de um número maior de metáfases para a análise das aberrações cromossômicas. Após esse período as células foram hipotonizadas (KCl e Citrato de Sódio), fixadas (metanol e ácido acético), gotejadas em lâminas e coradas com a técnica de fluorescência mais Giemsa para a análise de 100 - 300 metáfases em microscópio óptico CARL ZEISS.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A frequência e a distribuição de aberrações cromossômicas induzidas *in vivo* em linfócitos periféricos de doadores com câncer de próstata, antes e 1 hora após a administração de $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

Os resultados mostram que já 1 hora após a injeção endovenosa de $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ é possível visualizar o efeito da partícula β do radionuclídeo em linfócitos de pacientes. Tanto o número de células com aberrações como o número de aberrações/célula são mais altos em amostras processadas 1 hora após a administração em relação aos dados basais (cerca de 1,5 a 3,0 vezes).

Pode-se verificar na tabela 2 que o tipo de aberração que mais contribui para o aumento é o dicêntrico nos três doadores analisados. Segundo a IAEA [18], a sua taxa espontânea é relativamente baixa, da ordem de 1/1000 células.

O dado basal mais alto encontrado no paciente MV (0,037 aberrações/célula), provavelmente é decorrente do tratamento radioterápico que ele havia sido submetido antes da administração do ^{153}Sm . Embora o doador JBS apresente o número de dicêntricos relativamente alto (07) em suas células, o tipo de aberração que contribui igualmente, aumentando o valor basal (0,033 aberrações/célula) é o *double minute* (06), não encontrado nos outros pacientes. Além do *double minute* é observada também a presença de células tetraplóides nestes pacientes, frequentes em células tumorais [19, 20]. Estas observações fazem supor que o paciente JBS apresenta um valor basal relativamente alto em decorrência do estado patológico da doença e o que apresenta maior radiosensibilidade à ação do ^{153}Sm (0,091 aberrações/célula).

O estudo da radiosensibilidade celular em pacientes com câncer ósseo é de grande relevância, pois permite estabelecer condutas de acompanhamento dos

pacientes em terapia, reavaliando as doses e a frequência de aplicações.

O ^{153}Sm é eliminado rapidamente do compartimento vascular após a injeção endovenosa com meia vida biológica de $3,7 \pm 0,5$ h [2] : cerca de 10% da atividade do ^{153}Sm permanece no sangue total 1 h após a administração [3]. Aproximadamente 50% da atividade injetada é excretada na urina dentro de 8 horas quando da administração e a atividade remanescente se concentra nos locais de atividade osteoblástica aumentada com pequena captação no tecido mole, como o fígado (cerca de 5%) [21].

A análise de um número maior de doadores se faz necessária para que haja significância estatística na avaliação mais acurada dos efeitos citogenéticos do ^{153}Sm em células humanas *in vivo*.

TABELA 1. Frequência de aberrações cromossômicas encontradas *in vivo* em linfócitos sanguíneos de pacientes com adenocarcinoma de próstata antes e 1 hora após a administração de ^{153}Sm -EDTMP

Doador	nº de células analisadas	nº total de aberrações	nº de células com aberrações (%)	nº de aberrações/célula
JBS basal	517	17	15 (2,9)	0,033
JBS 1 hora	186	17	16 (8,6)	0,091
WG basal	116	02	02 (1,7)	0,017
WG 1 hora	274	13	12 (4,4)	0,047
MV basal (RT)	300	11	09 (3,0)	0,037
MV 1 hora (RT)	410	23	21 (5,1)	0,056

RT: paciente submetido ao tratamento radioterápico

TABELA 2. Distribuição de aberrações cromossômicas encontradas *in vivo* em linfócitos sanguíneos de pacientes com adenocarcinoma de próstata antes e 1 hora após a administração de ^{153}Sm -EDTMP

Doador	dicêntrico	anel	gap	fragmento	translocação	double minute
JBS-basal	07	-	-	04	-	06
JBS-1 hora	12	02	01	02	-	-
WG-basal	01	-	01	-	-	-
WG-1 hora	07	02	04	-	-	-
MV-basal	01	01	08	-	01	-
MV-1 hora	13	-	09	-	01	-

Nos doadores JBS e MV foram observadas metáfases tetraplóides

REFERÊNCIAS

- [1] DeANTONI,E.; CRAWFORD,D. **Strategies: Prevention, early detection, treatment of prostate cancer. New Perspectives in Cancer Diagnosis and Management**, v.2, n.1, p.1-13, 1994.
- [2] LEWINGTON, V. J. **Targeted radionuclide therapy for bone metastases.** Eur. J. Nucl. Med. , v. 20, p. 66-74, 1993.
- [3] SINGH, A.; HOLMES, R. A.; FARHANGI, M.; VOLDERT, A. W.; WILLIAMS, A.; STRINGHAM, L. M. ; KETRING, A. R. **Human pharmacokinetics of Samarium-153 EDTMP in metastatic cancer.** J. Nucl. Med., v. 30, p. 1814-1818, 1989.
- [4] BRULAND, O. S.; SKRETTING, A.; OYVIN, P. S.; AAS, M. **Targeted radiotherapy of osteosarcoma using ^{153}Sm -EDTMP.** Acta Oncol., v. 35, n. 3, p. 381-384, 1996.
- [5] COLLINS, C.; EARY,J.F.; DONALDSON,G.; VERNON,C.; BUSH, N.E.; PETERSDORF,S.; LIVINGSTON,R.B.; GORDON,E.E.; CHAPMAN, C.R.; APPELBAUM, F.R. **Samarium-153-EDTMP in bone metastases of hormone refractory prostate carcinoma: A phase I/II trial.** J.Nucl.Med., v.34, p.1839-1844, 1993.
- [6]FARHANGHI,M; HOLMES,R.A.; VOLKERT, W.A.; LOGAN,K.W.; SINGH,A. **Samarium-153-EDTMP: Pharmacokinetic, toxicity and pain response using an escalating dose schedule in treatment of metastatic bone cancer.** J. Nucl. Med., v.33, n.8, p. 1451-1458,1992.
- [7] ALBERTS,A.S.; BRINGTON,S.W.; KEMPF,P.; LOUW,W.K.; BEEK,A.V.; KRITZINGER,V.; WESTERINK, H.P.; Van RENSBURG, A.J. **Samarium-153-EDTMP for palliation of Ankylosing Spondylitis, Paget's disease and rheumatoid Arthritis.** J.Nucl.Med., v.36, p.1417-1420, 1995.
- [8] EARY,J.F.; COLLINS, C.; STABIN, M.; VERNON,C.; PETERSDORF,S.; BAKER,M.; HARTNETT, S.; FERENCY, S.; ADDISON, S.J.; APPELBAUM, F.R.; GORDON,E.E. **Samarium-153 - EDTMP biodistribution and dosimetry estimation.** J. Nucl. Med., v.34, p. 1031-1036, 1993.
- [9] HEGGIE, J.C.P. **Radiation Absorbed dose calculations for Samarium-153-EDTMP localized in bone.** J.Nucl.Med., v.32, p.840-844, 1991.
- [10] BARQUINERO, MIRÓ,R.; RIBAS,M.; EGOZCUE,J. **Biological dosimetry in simulated *in vitro* partial**

irradiations. Int.J.Radiat.Biol., v.71; n.4, p.435-440, 1997.

[11] KÖKSAL, G.; PALA, F. S.; DALCI, D. Ö. **In vitro dose-response curve for chromosome aberrations induced in human lymphocytes by ^{60}Co γ -radiation.** Mutat. Res., v.329, p.57-61, 1995.

[12] FABRY,L.; LEONARD,A., WAMBERSIE,A. **Induction of chromosome aberrations in G_0 human lymphocytes by low dose of ionizing radiations of different quality.** Radiat.Res., v.103, p.122-134, 1985.

[13] DURANTE,M.; GROSSI, G.F.; GIALANELLA,G.; PUGLIESE,M.; NAPPO,M.; YANG, T.C. **Effects of α -particles on survival and chromosomal aberrations in human mammary epithelial cells.** Radiat.Environ.Biophys., v.34, p.195-204, 1995.

[14] HALL,S.C.; WELLS,J. **Micronuclei in human lymphocytes as a biological dosimeter: preliminary data following bata irradiation *in vitro*.** J.Radiol.Prot., v.8, n.2, p.97-102, 1988.

[15] MILL; WELLS, J.; HALL, S. C.; BUTLER, A. **Micronucleus induction in human lymphocytes: comparative effects of X rays, alpha particles, beta particles and neutrons and implications for biological dosimetry.** Radiat.Res., v.145, p.575-585, 1996.

[16] VULPIS, N. **The induction of chromosome aberrations in human lymphocytes by *in vitro* irradiation with β particles from tritiated water.** Radiat.Res. v. 97, p.511-518, 1984

[17] TANAKA,K.; SAWADA,S.; KAMADA,N. **Relative biological effectiveness and dose rate effect of tritiated water on chromosomes in human lymphocytes and bone marrow cells.** Mutat.Res. v.323, p.53-61, 1994.

[18] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Biological dosimetry chromosomal aberrations analysis for dose assessment.** Technical Report Series n^o 260, Vienna, IAEA, 1986 STI/PUB/10/260.

[19] THERMAN,E. **Human chromosomes. Structure, behavior, effects.** 2^a edition, Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo, 1986

[20] YUNIS,J.J. **The chromosomal basis of human neoplasia.** Science (Wash.DC), v.221, p.227-236, 1983.

[21] KASI, L. P.; FOSSELLA, F.; HOLOYE, P.; PODOLOFF, D.; KIM,E.; CRANE, J.; GORDON, E. E. **Evaluation of multiple dose ^{153}Sm -EDTMP for bone pain palliation in cancer patients.** Proc.7th International

Symposium of Radiopharmacology. Boston, Mass, p.11, 1991.

ABSTRACT

The ^{153}Sm is a radionuclide with physical half-life of 46.8h, it emits beta particles (72%) with a mean energy of 290 keV and gamma rays (28%) of 103 keV. Thanks to its radiochemistry and physical characteristics, the ^{153}Sm -EDTMP has been used as a therapeutic radiopharmaceutical drug for the palliation of bone pain in patients with bone metastases . The purpose of the present study is to examine the effects of ^{153}Sm -EDTMP in human lymphocytes, since, no information about the cytogenetic effects of the beta particle of ^{153}Sm -EDTMP. Therefore, blood samples of 3 patients with prostate adenocarcinome were obtained, one of them had been submitted to radiotherapy treatment. The blood samples (5mL) were collected before and 1 hour after the endovenous administration of ^{153}Sm -EDTMP. The blood samples were processed for chromosome aberration analyses. The results show that the number of aberration per cell was higher in the samples obtained 1 hour after the administration of ^{153}Sm -EDTMP. Therefore, it is necessary to analyze more samples to get a better statistical significance for an evaluation accurate of cytogenetic effects of ^{153}Sm -EDTMP and to establishment of changes in therapeutic protocol of the patients, as in the dose as in the frequency of applications.