

CNEN/SP

ipen Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares

**BIODISTRIBUIÇÃO DO ÁCIDO 2,6 DIISOPROPILIMINODIACÉTICO –
 ^{99m}Tc (DISIDA - ^{99m}Tc) EM RATOS NORMAIS E COM
LESÃO HEPÁTICA EXPERIMENTAL**

**Maria Tereza Colturato, Emiko Muramoto, Elena Setuko Hamada, Merycel Rosa Figueis
de Barboza, Rosana Herreiras e Constância Pagano Gonçalves da Silva**

PUBLICAÇÃO IPEN 176

JULHO/1988

SÃO PAULO

**BIODISTRIBUIÇÃO DO ÁCIDO 2,6 DIISOPROPILIMINODIACÉTICO - ^{99m}Tc
(DISIDA - ^{99m}Tc) EM RATOS NORMAIS E COM
LESÃO HEPÁTICA EXPERIMENTAL**

**Maris Tereza Colturato, Emiko Muramoto, Elena Setuko Hamada, Marycel Rosa Figols de Barboza,
Rosana Herrerias e Constância Pagano Gonçalves da Silva**

DEPARTAMENTO DE PROCESSAMENTO

**CNEN/SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
SÃO PAULO - BRASIL**

Série PUBLICAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

C 21.20

**IMINES
TECHNETIUM 99
METASTABLE STATES
RADIONUCLIDE KINETICS
LIVER
SCINTISCANNING**

IPEN - Doc - 3045

Publicação aprovada pela CNEN em 30.06.87

Nota: A redação, ortografia, conceitos e revisão final são de responsabilidade do(s) autor(es).

BIODISTRIBUIÇÃO DO ÁCIDO 2,6 DIISOPROPILIMINODIACÉTICO-^{99m}Tc
(DISIDA-^{99m}Tc) EM RATOS NORMAIS E COM LESÃO HEPÁTICA EXPERI-
MENTAL*

Maria Tereza Colturato, Emiko Muramoto, Elena Setuko Hamada,
Marycel Rosa Figols de Barboza, Rosana Herrerias e Constân-
cia Pagano Gonçalves da Silva

RESUMO

A biodistribuição e eliminação do DISIDA-^{99m}Tc foram estudadas em ratos por meio de cintilografia linear em diversos tempos da sua evolução metabólica.

Os animais utilizados na detecção deste radiofármaco foram ratos normais e com alteração hepática experimental.

Verificou-se uma demora na passagem do DISIDA-^{99m}Tc do fígado ao intestino delgado nos ratos pré-tratados em relação aos ratos normais.

Seguindo-se a via metabólica hepato-biliar da substância marcada, notou-se que embora esteja praticamente intacta através da bile, ela sofre um processo de degradação ainda desconhecido, sendo eliminada via renal com 70% da sua integridade 120 minutos após a administração da dose traçadora.

BIODISTRIBUTION OF 2,6 DIISOPROPYLIMINODIACETIC ACID-^{99m}Tc
(DISIDA-^{99m}Tc) IN NORMAL RATS AND WITH EXPERIMENTAL HEPATIC
LESION

ABSTRACT

The biodistribution and elimination of ^{99m}Tc-DISIDA were examined by performing scintigrams on rats at different times.

Normal animals (rats) and those with experimental hepatobiliary alterations were used.

Results showed a delayed clearance of ^{99m}Tc-DISIDA into the small intestine of the experimental animals. The elimination of the labelled compound by the kidney was 14% dose/g 120 minutes after the injection of which 70% was found in its original form.

The data indicate that in spite the compound is intact in bile it undergoes a degradative process, not yet known.

INTRODUÇÃO

Os radiofármacos marcados com ^{99m}Tc, excretados preferencialmente

(*) Trabalho apresentado no (XI Congresso de la Asociación Latino Americana de Sociedades de Biología y Medicina Nuclear) - Cidade do México - México, de 16 a 21 de novembro de 1987.

2.

pelas vias biliares, tem sido utilizados nos últimos anos em Medicina Nuclear. A visualização do sistema hepato-biliar por meio de cintilografia apresenta-se como um método atraumático. Em relação às colangiografias que utilizam meios de contraste.

Harvey e col. (1975) (4) e Lobenz e col. (1976) (5) introduziram os derivados do ácido iminodiacético (HIDA) marcados com ^{99m}Tc como substituto da Rosa Bengala- ^{131}I (Taplin, 1968) (6) e Bromossulfaleína- ^{131}I . Estes radiofármacos são excretados, rapidamente, do conduto biliar ao intestino delgado, mas o transporte para o intestino grosso é demorado, de limitando seu uso em cintilografia, devido as características físicas do ^{131}I (energia de 360 KeV), que resulta em uma dose de radiação alta na mucosa mesentérica. No entanto, o ^{99m}Tc apresenta-se como um radioisótopo adequado pela energia de 140 KeV, meia-vida de 6 horas, podendo ser administrado em doses mais elevadas em relação ao ^{131}I , melhorando a resolução e a qualidade de imagens nas cintilografias.

As características ideais de um radiofármaco utilizado em cintilografia do sistema biliar (7) são: a) rápida extração do sangue pelo fígado, b) rápido trânsito hepático, c) alta concentração biliar, d) pouca reabsorção no intestino, e) baixa eliminação urinária, f) ser de fácil preparação e alto rendimento de marcação.

Embora os diferentes derivados do HIDA sejam metabolizados pelas células parenquimais do fígado, o mecanismo deste processo não está estabelecido.

O propósito deste trabalho é estudar e avaliar o comportamento de distribuição biológica do DISIDA- ^{99m}Tc em lote de ratos normais e com lesão hepática experimental.

MATERIAL E MÉTODO

1. Radiofármaco:

O conjunto de reativo Hofilizado do ácido diisopropiliminodiacético (DISIDA) foi produzido na Divisão de Radiofarmácia do Departamento de Processamento do IPEN-CNEN/SP, de acordo com Hamada e col. (3).

Na marcação foi utilizada uma solução de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ eluída de um gerador de ^{99}Mo produzido na Divisão de Isótopos do IPEN-CNEN/SP. O volume utilizado por frasco foi de 1-3ml com uma concentração radioativa de 1 mCi/ml. O tempo de reação foi de 30 minutos.

2. Animais:

Foram utilizados ratos adultos, machos, da raça Wistar, com peso médio de 310g e Hamster adulto, mantidos no biotério IPEN-CNEN/SP.

Os animais foram divididos em dois grupos:

Grupo A: ratos que receberam uma dieta normal, considerando-se este lote como controle.

Grupo B: ratos que receberam, tres vezes por semana, 0,2 - 0,3ml de tetracloreto de carbono, via oral, durante 40 dias, com o intuito de provocar lesão hepática.

3. Ensaio Biológico:

Após a anestesia com Uretana (100mg/100g de peso) via intraperitoneal, cada animal do grupo A e B, recebeu, via intravenosa, 100 μCi do DISIDA- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (0,1 - 0,15ml), sendo sacrificados aos 5', 15', 30', 45', 60', 90' e 120' após a administração do traçador. Foram coletadas amostras sanguíneas por secção da veia jugular, e retirados os seguintes órgãos: coração, baço, pulmão, rim, bexiga, fígado, estômago e intestino. Estes órgãos foram lavados, pesados e a radioatividade determinada num contador gama tipo poço "Nuclear Chicago".

Paralelamente, estudou-se a distribuição do DISIDA- $^{99\text{m}}\text{Tc}$, fazendo-se um perfil de corpo inteiro em ratos normais nos tempos de 2, 20, 60 e 120 min. e em Hamster nos tempos de 5, 15, 30, 60 e 120 minutos, após administração da dose traçadora. Para este estudo utilizou-se um cintilador linear da Nuclear Chicago (Pho-Dot Scanner).

RESULTADOS

A tabela I e o gráfico 1 mostram a distribuição biológica do DISIDA- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ em ratos normais, cujas respostas, foram expressas em % dose/g de tecido. Por esses dados observou-se captação intestinal máxima de 36,32 % d/g aos 60 minutos decrescendo a 30,63% dose/g aos 120 minutos.

A captação no rim foi de 1,14% dose/g aos 5 minutos decrescendo até 0,74% dose/g aos 120 minutos, demonstrando que o radiofármaco é pouco eliminado por esta via e encontrando-se na bexiga após 120 minutos com uma eliminação de 14,63% dose/g. Pela avaliação feita em urina de 120 minutos por cromatografia em papel, verificou-se que somente 70% do DISIDA- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ manteve-se estável, o restante apresentou-se como $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ livre. Observou-se também que houve um decréscimo na atividade sanguínea de 0,41 a 0,37 % dose/g nos tempos mencionados.

A tabela III e o gráfico 2 mostram a distribuição biológica do DISIDA- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ em ratos pré-tratados com tetracloreto de carbono, sendo os resultados expressos em % dose/g. Notou-se uma captação de 2,68% dose/g no fígado, nos primeiros 5 minutos, seguido de um rápido clareamento.

A passagem pelo intestino foi mais demorada em relação ao grupo de ratos normais, observando-se uma captação crescente no decorrer do estudo, atingindo uma captação de 26,17% dose/g aos 120 minutos após administração da dose traçadora. A captação renal mostrou-se também diminuída (1,60% dose/g) e o acúmulo de radioatividade na bexiga foi de 5,20% dose/g aos 120 minutos.

As tabelas II e IV mostram os resultados da distribuição biológica em ratos normais e pré-tratados com tetracloreto de carbono, respectivamente, expressos em % contagem totais/g de tecido.

As cintilografias sequenciais (Fig. 1 e 2), realizadas em rato e Hamster normais após administração do DISIDA- $^{99\text{m}}\text{Tc}$, apresentaram imagens que comprovam o rápido trânsito do radiofármaco do fígado para o intestino através da bile.

CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos pôde-se concluir que o DISIDA- ^{99m}Tc mostrou comportamento ideal de um radiofármaco para as vias biliares, apresentando um clareamento sanguíneo rápido, eliminação renal baixa (1) com acúmulo urinário, aos 120 minutos de 14% dose/g e rápido trânsito pelo fígado com alta captação mesentérica.

Em ratos com lesão hepática o comportamento do radiofármaco foi similar ao grupo controle, embora o transporte do fígado ao intestino tenha sido mais lento. Em casos de adenoma hepático ou de pacientes com hiperavitaminoses onde o hepatócito está danificado, o DISIDA- ^{99m}Tc normalmente liga-se aos hepatócitos (9).

Não foi encontrada diferença de distribuição biológica nos demais órgãos, entre os ratos controles e com pré-tratamento de tetracloreto de carbono, provavelmente, esta substância como no caso do etanol (1) induz alterações nas propriedades das membranas plasmáticas influenciando o clearance do DISIDA- ^{99m}Tc na forma não metabolizada pelo hepatócito, sendo excretado em sua forma original, como descrito na citação de Loberge e col. (15).

T A B E L A I

DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DO DISIDA-^{99m}Tc EM RATOS NORMAIS
(% DOSE/g TECIDO).

| TEMPO ÓRGÃO | 05 | 15 | 30 | 45 | 60 | 90 | 120 |
|----------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| BAÇO | 0,11 | 0,06 | 0,04 | 0,08 | 0,21 | 0,05 | 0,08 |
| BEXIGA | 0,08 | 1,26 | 1,41 | 0,16 | 0,14 | 4,59 | 14,63 |
| CORAÇÃO | 0,23 | 0,10 | 0,06 | 0,08 | 0,20 | 0,06 | 0,05 |
| ESTÔMAGO | 2,99 | 4,43 | 0,32 | 0,19 | 3,45 | 0,91 | 0,30 |
| FÍGADO | 2,58 | 0,75 | 0,46 | 0,52 | 0,62 | 0,46 | 0,35 |
| INTESTINO | 9,62 | 18,54 | 25,94 | 31,81 | 36,32 | 29,46 | 30,66 |
| PULMÃO | 0,23 | 0,13 | 0,04 | 0,09 | 0,17 | 0,07 | 0,05 |
| RIM | 1,14 | 2,19 | 1,53 | 1,75 | 3,49 | 1,77 | 0,74 |
| SANGUE | 0,41 | 0,19 | 0,10 | 0,15 | 0,21 | 0,10 | 0,07 |

T A B E L A I I

DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DO DISIDA-^{99m}Tc EM RATOS NORMAIS (% DE CAPTAÇÃO NOS ÓRGÃOS EM RELAÇÃO AS CONTAGENS TOTAIS/g TECIDO).

| TEMPO (min) ÓRGÃO | 05 | 15 | 30 | 45 | 60 | 90 | 120 |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| BAÇO | 0,60 | 0,25 | 0,13 | 0,21 | 0,46 | 0,11 | 0,17 |
| BEXIGA | 0,49 | 3,32 | 3,14 | 0,34 | 0,33 | 8,45 | 16,97 |
| CORAÇÃO | 1,34 | 0,40 | 0,18 | 0,23 | 0,43 | 0,13 | 0,11 |
| ESTÔMAGO | 17,17 | 12,03 | 0,88 | 0,79 | 8,15 | 1,73 | 1,34 |
| FÍGADO | 14,86 | 2,44 | 1,24 | 1,41 | 1,36 | 1,42 | 0,57 |
| INTESTINO | 54,01 | 73,35 | 90,66 | 91,43 | 80,93 | 83,60 | 77,53 |
| PULMÃO | 1,35 | 0,58 | 0,17 | 0,26 | 0,38 | 0,15 | 0,18 |
| RIM | 6,54 | 6,36 | 3,72 | 4,87 | 7,63 | 4,16 | 2,81 |
| SANGUE | 0,24 | 0,78 | 0,33 | 0,44 | 0,46 | 0,25 | 0,22 |

T A B E L A I I I

DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DO DISIDA-^{99m}Tc EM RATOS PRÉ-TRATADOS
COM TETRACLORETO DE CARBONO ·

(% DOSE/g TECIDO)

| TEMPO (min.) | 05 | 15 | 30 | 45 | 60 | 90 | 120 |
|-----------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| BAÇO | 0,15 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,03 | 0,04 | 0,04 |
| BEXIGA | 0,20 | 1,01 | 2,77 | 0,05 | 2,81 | 0,21 | 5,20 |
| CORÇÃO | 0,16 | 0,04 | 0,03 | 0,03 | 0,04 | 0,03 | 0,03 |
| ESTÔMAGO | 0,05 | 2,04 | 0,06 | 0,07 | 1,15 | 0,01 | 0,21 |
| FÍGADO | 2,86 | 0,57 | 0,34 | 0,11 | 0,36 | 0,16 | 0,13 |
| INTESTINO | 2,65 | 10,05 | 14,50 | 16,19 | 15,41 | 16,66 | 26,17 |
| PULMÃO | 0,24 | 0,07 | 0,04 | 0,03 | 0,05 | 0,04 | 0,03 |
| RIM | 1,60 | 1,11 | 0,89 | 0,52 | 1,19 | 0,98 | 0,66 |
| SANGUE | 0,43 | 0,10 | 0,06 | 0,06 | 0,10 | 0,07 | 0,05 |

TABELA IV

DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DO DISIDA-^{99m}Tc EM RATOS PRÉ-TRATADOS COM TETRACLORETO DE CARBONO (% DE CAPTAÇÃO NOS ÓRGÃOS EM RELAÇÃO AS CONTAGENS TOTAIS/g TECIDO).

| ÓRGÃO \ TEMPO (min.) | 05 | 15 | 30 | 45 | 60 | 90 | 120 |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| BAÇO | 1,89 | 0,14 | 0,14 | 0,17 | 0,15 | 0,26 | 0,13 |
| BEXIGA | 2,47 | 7,19 | 11,90 | 0,34 | 12,13 | 1,15 | 13,62 |
| CORAÇÃO | 1,95 | 0,29 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,19 | 0,10 |
| ESTÔMAGO | 0,62 | 12,59 | 0,26 | 0,44 | 1,25 | 0,08 | 0,56 |
| FÍGADO | 34,04 | 3,90 | 2,00 | 0,69 | 1,79 | 0,88 | 0,43 |
| INTESTINO | 31,81 | 67,15 | 79,90 | 94,49 | 74,39 | 91,30 | 82,65 |
| PULMÃO | 2,87 | 0,45 | 0,27 | 0,20 | 0,25 | 0,26 | 0,11 |
| RIM | 19,11 | 7,58 | 4,85 | 3,06 | 5,81 | 5,39 | 2,15 |
| SANGUE | 5,16 | 0,65 | 0,37 | 0,35 | 0,49 | 0,42 | 0,19 |

GRÁFICO 1

DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DO DISIDA-^{99m}Tc EM RATOS NORMAIS EM % DOSE/g DE TECIDO EM FUNÇÃO DO TEMPO (MIN.).

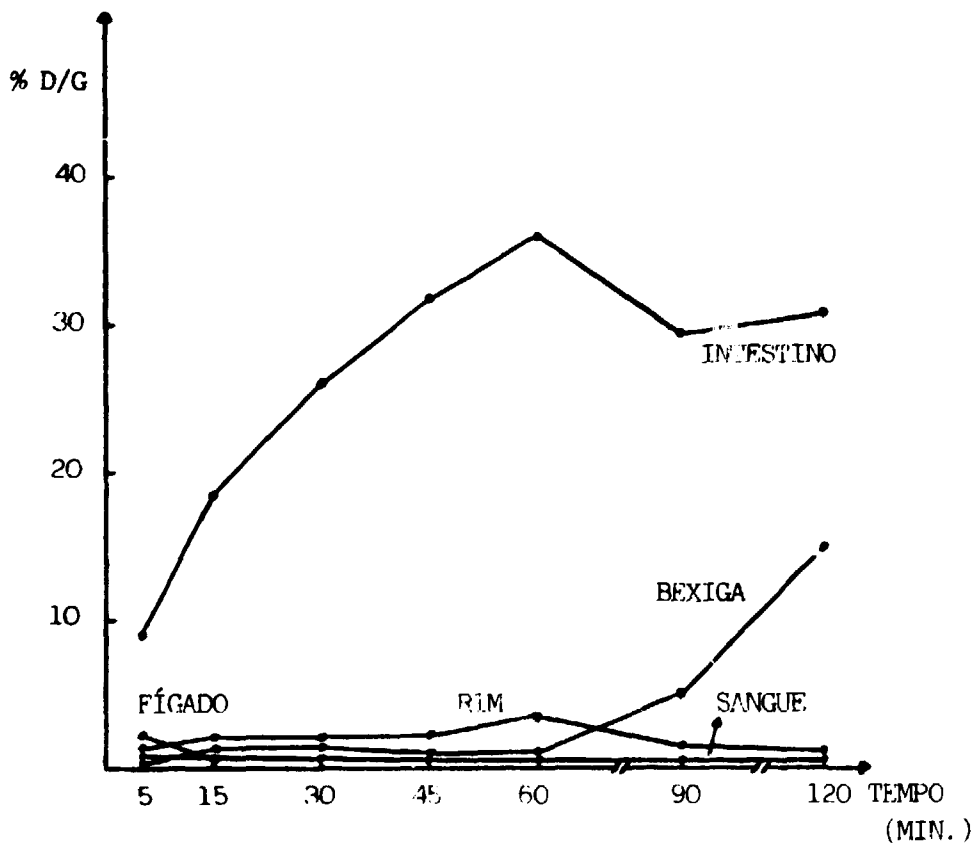


GRÁFICO 2

DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DO DISIDA-^{99m}Tc EM RATOS PRÉ-TRATADOS COM TETRA CLORETO DE CARBONO, EXPRESSA EM % DOSE/g DE TECIDO EM FUNÇÃO DO TEMPO (MIN.).

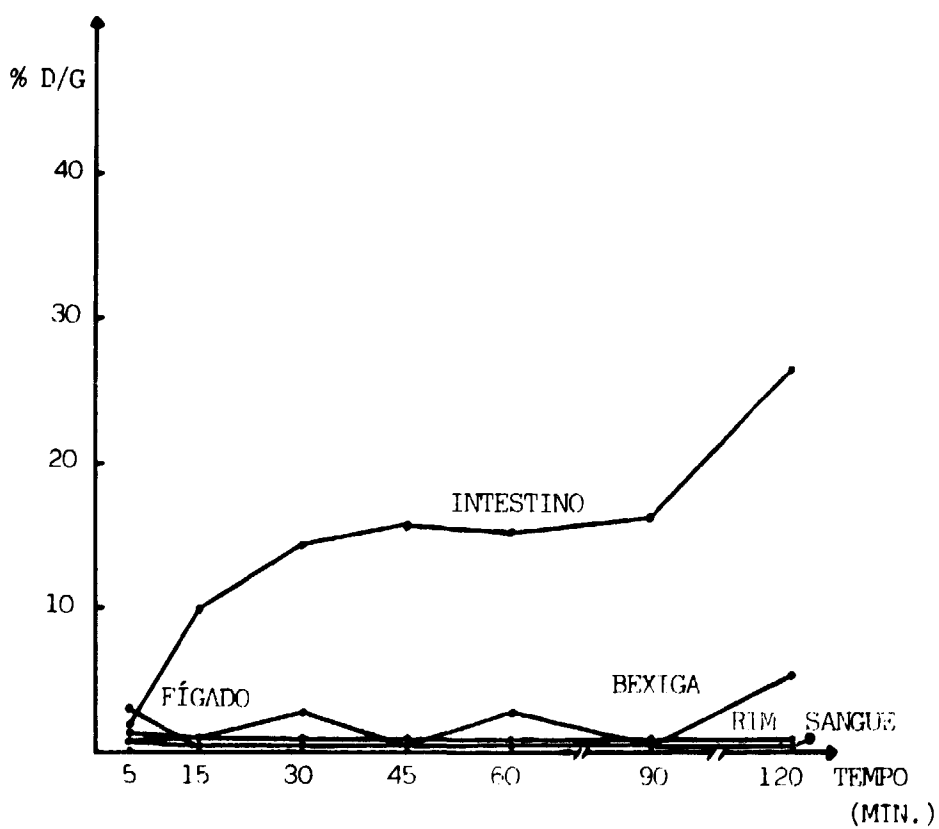
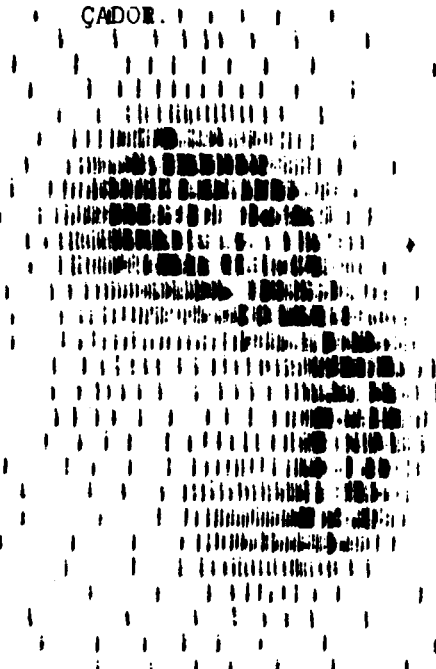
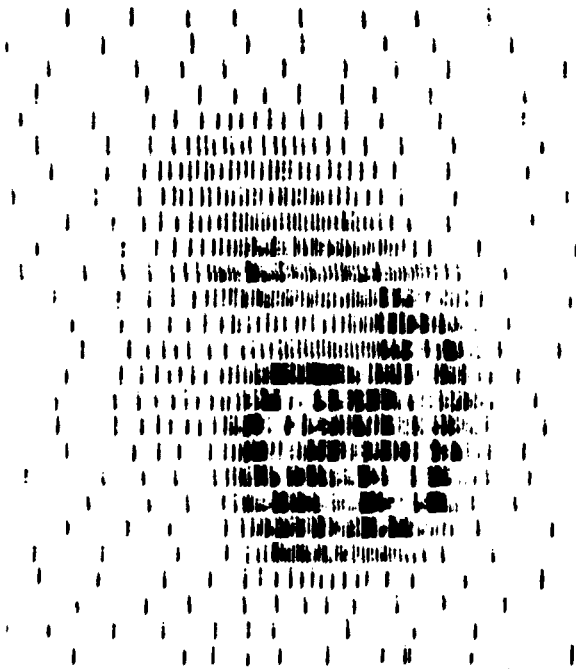


FIGURA 1

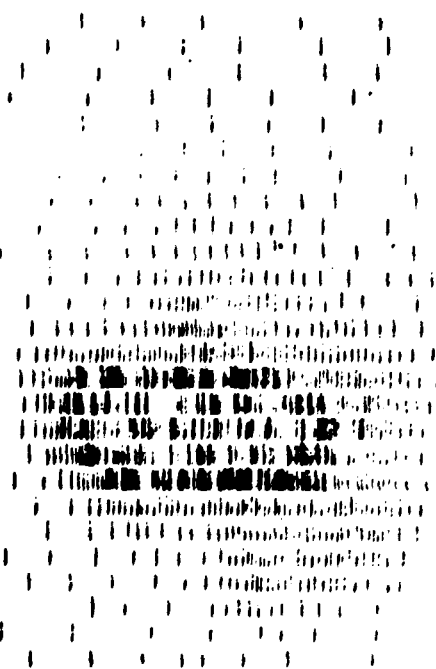
CINTILOGRAFIA REALIZADA EM RATOS NORMAIS COM DOSE DE 100 μ Ci DE
DISIDA-^{99m}Tc EM 02, 20, 60 e 120 MINUTOS APÓS A INJEÇÃO DO TRA
ÇADOR.



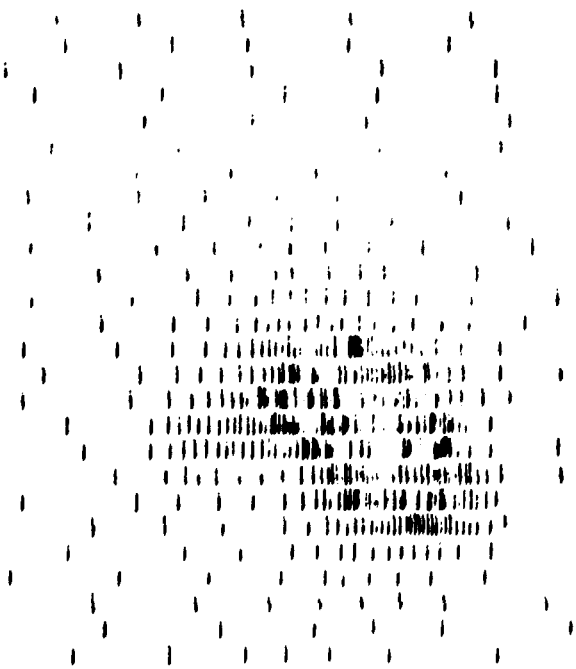
02 MINUTOS



20 MINUTOS



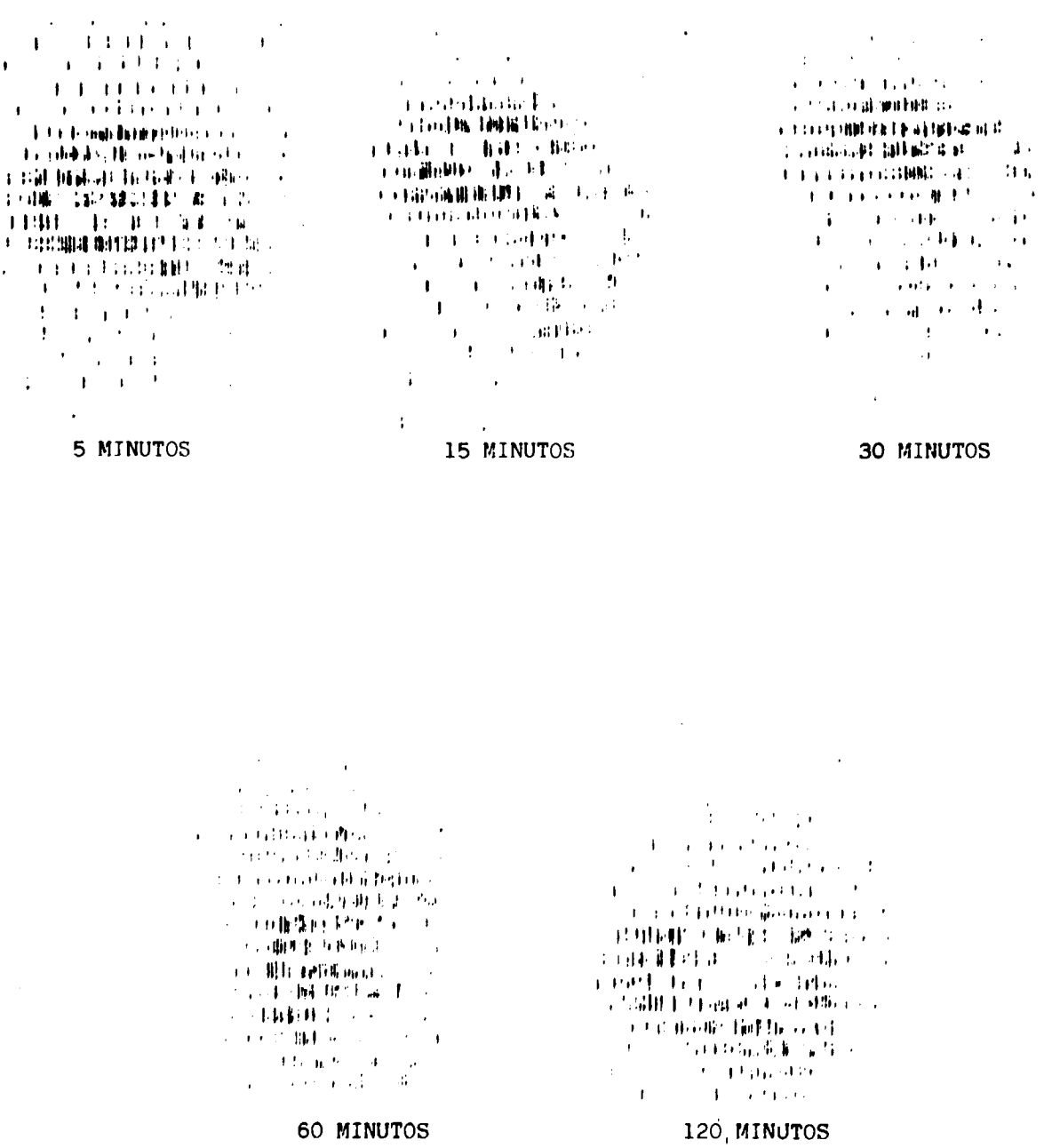
60 MINUTOS



120 MINUTOS

FIGURA 2

CINTILOGRAFIA REALIZADA EM HAMNSTER COM DOSE DE 110 μ Ci de DISIDA-^{99m}TC
EM 05, 15, 30, 60 E 120 MINUTOS APÓS A INJEÇÃO DO TRAÇADOR.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COENEGRACHT, J.M.; OCI, F.L.; VAN BREDA VRIESMAN; P.J.C. The influence of bilirubin, alcohol, and certain drugs on the kinetics of ^{99m}Tc - Diethyl (IDA) (EHIDA) in humans. Eur. J. Nucl. Med., (8):140-4,1983.
2. FREIRE, D.Y.M; BARBOZA, M.F. de ; MURAMOTO, E.; ACHANDO. S.S.; SILVA, C.P.G. da. Estudo "in vitro" e "in vivo" da ^{99m}Tc -DISIDA. * (A ser publicado)
3. HAMADA, E.S.; BARBOZA, M.F. de; COLTURATO, M.T; ALMEIDA, M.A.T. de The synthesis of 2,6 diisopropyl phenylcarbomoylmethyl iminodiacetic acid. Production of lyophilized radiopharmaceutical kits for labelling with ^{99m}Tc . In: CCX, P.H. & TOUYA, E., eds. New perspectives in nuclear medicine. Part 2: Instrumentation, laboratory investigations and "in vitro" studies: proceedings of the 9th congress of the Association of the Latin American Societies of Nuclear Medicine and Biology, Montevideo, Dec. 9-13,1984. New York, Gordon and Breach Science, 1986. p. 135-140. (Monographs in nuclear medicine, 2).
4. HARVEY, E.; LOBERG, M.; COOPER, M. A new radiopharmaceutical for hepatobiliary imaging. J.Nucl. Med. 16:533, 1975
5. LOBERG, M.D.; COOPER, M.D.; HARVEY, E.B.; COLLERY, P.S.; FAITH, W.C. Development of new radiopharmaceuticals based on N-substitution of iminodiacetic acid. J.Nucl.Med. 17:633-8, 1976.
6. TAPLIN, G.V.; ORSELL JR., M.M.; KADE, H. The radioactive (I^{131} -targeted) rose bengal uptake-excretion test for liver function using external gamma ray scintillation counting techniques. J.Lab.Med., 45:655-78, 1955.
7. WISTOW, B.W.; SUBRAMANIAN, G.; HEERTUM, R.L.V.; HENDERSON, B.W.; GAGNE, G.M.; HALL, R.C.; MCAFEE, J.G. An Evaluation of ^{99m}Tc -labelled Hepatobiliary Agents. J.Nucl.Med., 18:455-61, 1977.
8. ZIVANOVIC, M.A.; TAYLOR, D.M.; MCCREADY, R.; MELLER, S.T. The stability and distribution of ^{99m}Tc -HIDA in vivo and in vitro. J.Nucl.Med., 4:369-73, 1979.
9. ZMBOVA, B.; DJOKIĆ, D.; NINKOVIĆ, D.; OBRADOVIĆ V.; KOSTIĆ, K. Chemical and biological properties of 2,6-Diisopropil-IDA labelled with ^{99m}Tc . Appl. Radiat. Isot., 38(1):35-40, 1987.