

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
da Barboza, Rosana Herreiras e Constância Pagano Gonçalves da Silva**

PUBLICAÇÃO IPEN 176

JULHO/1988

SÃO PAULO

**BIODISTRIBUIÇÃO DO ÁCIDO 2,8 DIISOPROPILIMINODIACÉTICO - ^{99m}Tc
(DISIDA - ^{99m}Tc) EM RATOS NORMAIS E COM
LESÃO HEPÁTICA EXPERIMENTAL**

**Maria 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 Congreso 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 Ioberg 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 Hiofilizado 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 30,66% 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

TABELA II

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

ÓRGÃO \ TEMPO (min)	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)

ÓRGÃO \ 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
CORAÇÃO	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

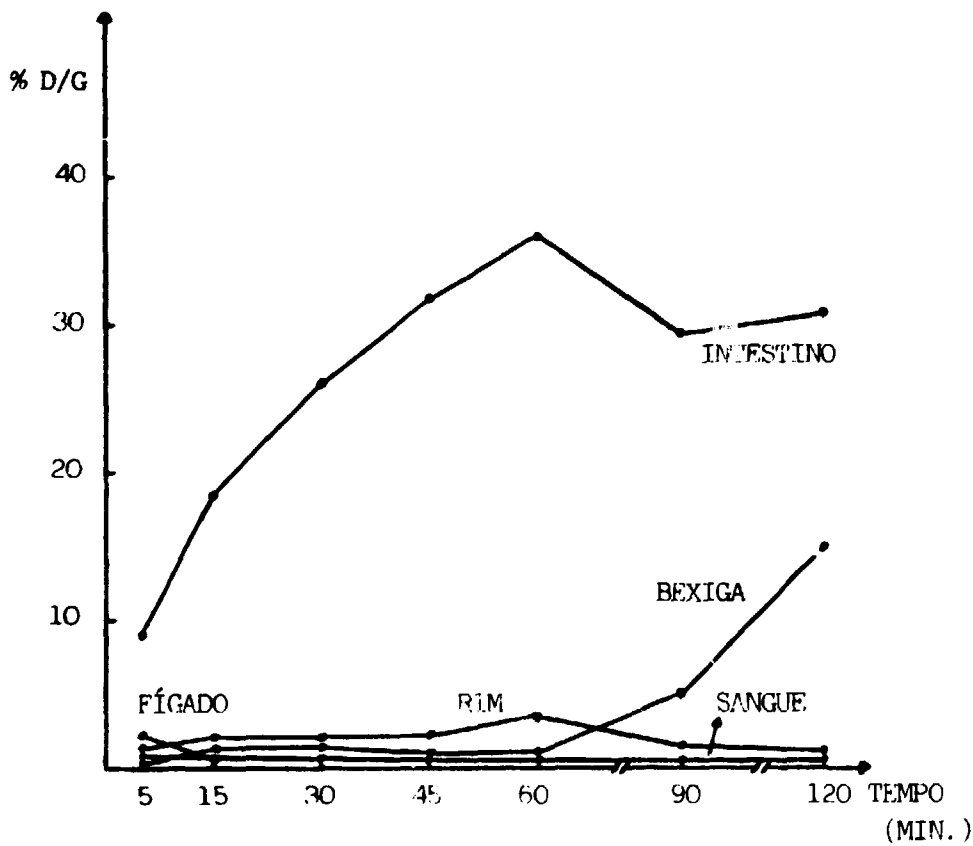
T A B E L A I V

DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DO DISIDA-^{99m}Tc EM RATOS PRÉ-TRATADOS COM TETRA-CLORETO DE CARBONO (% DE CAPTAÇÃO NOS ÓRGÃOS EM RELAÇÃO AS CONTAGENS TO-
TAIS/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.).



G R Á F I C O 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.).

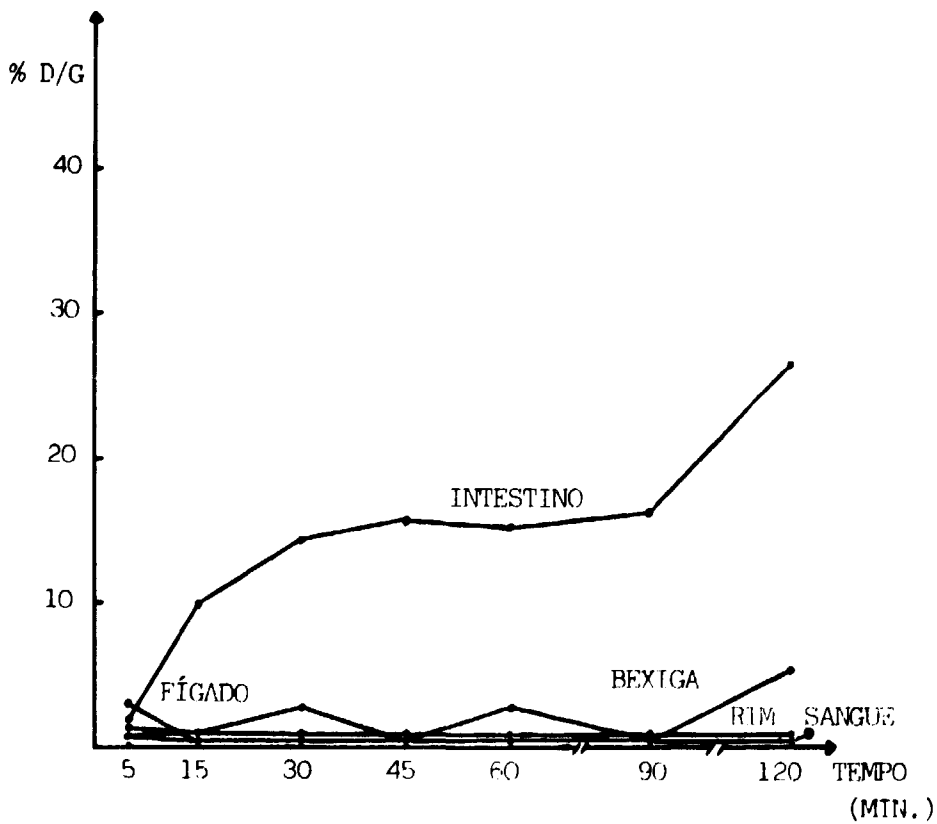


FIGURA 1

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

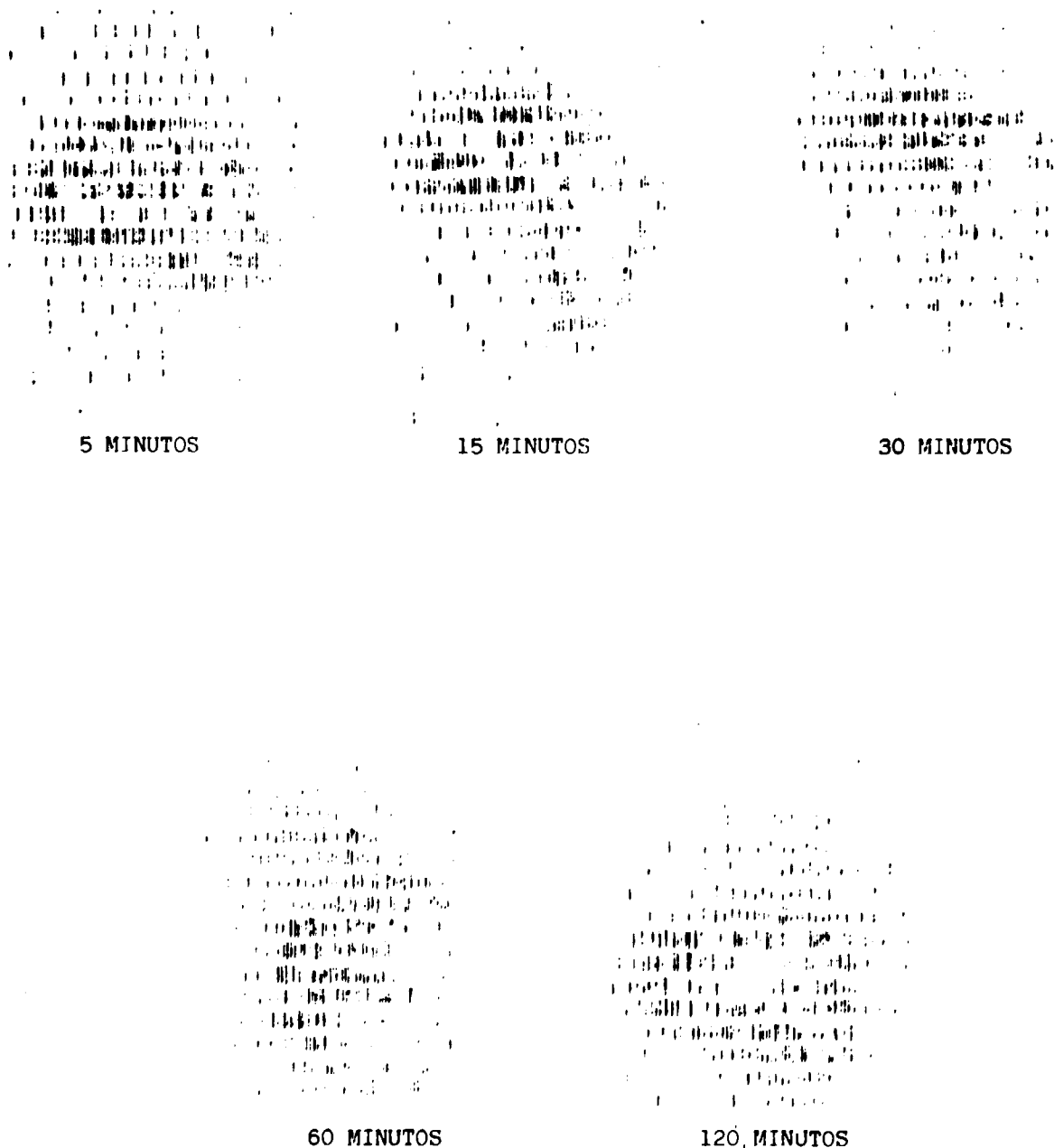
20 MINUTOS

60 MINUTOS

120 MINUTOS

FIGURA 2

CINTILOGRAFIA REALIZADA EM HAMSTER 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, T.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 phenylcarbomoylmethyllyl 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-Diisopropyl-IDA labelled with ^{99m}Tc . Appl. Radiat. Isot., 38(1):35-40, 1987.