

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**INFLUÊNCIA DA ESPLENECTOMIA NA BIODISTRIBUIÇÃO DO ÁCIDO  
DIMERCAPTOSUCCÍNICO-TECNÉCIO-99m (<sup>99m</sup>Tc-DMSA) EM RATOS  
*Wistar.***

**MARIA KADJA MENESES TORRES AÇUCENA**

**Natal – RN**

**2010**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

INFLUÊNCIA DA ESPLENECTOMIA NA BIODISTRIBUIÇÃO DO ÁCIDO  
DIMERCAPTOSUCCÍNICO-TECNÉCIO-99m ( $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA) EM RATOS  
*Wistar*.

MARIA KADJA MENESES TORRES AÇUCENA

Natal, RN

2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**INFLUÊNCIA DA ESPLENECTOMIA NA BIODISTRIBUIÇÃO DO ÁCIDO  
DIMERCAPTOSUCCÍNICO-TECNÉCIO-99m (<sup>99m</sup>Tc-DMSA) EM RATOS  
*Wistar*.**

**MARIA KADJA MENESES TORRES AÇUCENA**

**Dissertação apresentada à  
Universidade Federal do Rio Grande  
do Norte como parte dos requisitos  
para a obtenção do título de Mestre  
em Ciências da Saúde pelo  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciências da Saúde**

**Orientador: Prof. Dr. Aldo da Cunha Medeiro**

**Natal, RN**

**2010**

## CATALOGAÇÃO NA FONTE

A184i

Açucena, Maria Kadja Meneses Torres.

Influência da esplenectomia na biodistribuição do ácido dimercaptosuccínico-tecnécio-99m (99mTc-DMSA) em ratos *Wistar*/ Maria Kadja Meneses Torres Açucena. – Natal, 2010. 52 f.

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Aldo da Cunha Medeiros.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

1. Rádiofármacos-biodistribuição – Dissertação. 2. Tecnécio-99m – Dissertação. 3. Esplenectomia. 4. Rim – Dissertação. I. Medeiros, Aldo da Cunha. II. Título.

RN-UF/BS-CCS

CDU: 615.213(043.3)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA  
SAÚDE:

PROFa. Dra. TÉCIA MARIA DE OLIVEIRA MARANHÃO

NATAL – RN  
2010  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**INFLUÊNCIA DA ESPLENECTOMIA NA BIODISTRIBUIÇÃO DO ÁCIDO  
DIMERCAPTOSUCCÍNICO-TECNÉCIO-99m (<sup>99m</sup>Tc-DMSA) EM RATOS WISTAR.**

**MARIA KADJA MENESES TORRES AÇUCENA**

PRESIDENTE DA BANCA

Prof. Dr. Aldo da Cunha Medeiros - UFRN

Banca Examinadora

Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Goretti Freire de Carvalho - UNP

Prof<sup>a</sup>. Dra. Ivonete Batista de Araújo - UFRN

## DEDICATÓRIA

Dedico esse título primeiro a minha mãe Zuleide Menezes Torres que me deu vida, amor e sempre me incentivou a estudar acreditando que um dia eu poderia chegar aonde cheguei e até ir mais longe se assim desejar. E depois ao meu marido Kleison Araujo Açucena e meu filho Raul Torres Açucena pela compreensão.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me concedido mais essa oportunidade e que apesar das dificuldades existentes continua me fazendo acreditar que eu sou capaz.

Ao meu Orientador Professor Dr. Aldo da Cunha Medeiros, que me mostrou os caminhos para o êxito desse trabalho. Meu respeito e acima de tudo minha admiração.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

A Unidade de Medicina Nuclear da Liga Contra o Câncer.

A minha amiga Kércia Regina Santos Gomes Pereira pela parceria e co-participação em todos os momentos dessa caminhada.

A Arthur Villarin Neto com sua experiência como médico nuclear, sempre esclarecendo nossas dúvidas relacionadas ao assunto.

Agradeço a colaboração de Irami Araujo Filho, Amália Cíntia Meneses do Rego e Ítalo Medeiros Azevedo que sempre estiveram disponíveis a ajudar ao longo do trabalho.

A Marla Catarina, chefe da Unidade de Medicina Nuclear, que nunca impôs obstáculos na minha ausência na unidade.

Aos meus colegas de trabalho Rodrigo e Mabel pelas vezes que precisei me ausentar do trabalho e eles nunca se negaram a colaborar.

E finalmente a todos aqueles que direta ou indiretamente estiveram envolvidos nessa tarefa.

## LISTA DE ABREVIÇÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

DMSA	Ácido Dimercaptosuccínico
$^{99m}\text{Tc}$	Tecnécio metaestável com número de massa atômica 99
DMSA- $^{99m}\text{Tc}$	Radiofármaco DMSA marcado com Tecnécio
$\text{Mo}^{99m}$	Molibdênio com numero de massa atômico 99
$\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$	Pertecnetato de Sódio
$^{99m}\text{TcO}_4^-$	Íon Pertecnetato
$\text{SnCl}_2$	Cloreto Estanhoso
MBq	Megabequerel
mg/dl	Miligramas por decilitros
%ATI/g	Porcentagem de radioatividade por grama
Kev	Quiloeletrovolt
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
IPEN	Instituto de Pesquisa em Energia Nuclear
IV	Intravenosa
CNEN	Comissão Nacional em Energia Nuclear
PPGCSA	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
mCi	Milecurie

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1. O Radionuclídeo Tecnécio-99m .....	4
2.2. O Agente Redutor do pertecnetato .....	5
2.3. Ácido dimercaptossuccínico marcado com Pertecnetato de Sódio (DMSA- <sup>99m</sup> Tc).....	5
2.4. Biodistribuição de Radiofármacos.....	6
2.5. O Baço e a Esplenectomia .....	7
3. OBJETIVOS.....	9
4. ANEXAÇÃO DE ARTIGOS PUBLICADOS.....	10
4.1. ARTIGO PRINCIPAL .....	12
4.1.1. Influence of Splenectomy on the Biodistribution of Technetium-99m Dimercaptosuccinic acid (Tc-99m-DMSA) in Rats .....	12
4.2. OUTROS ARTIGOS PUBLICADOS EM COLABORAÇÃO.....	22
4.2.1. Biodistribution of the radiopharmaceutical Technetium-99m-sodium phytate in rats after splenectomy. ....	22
4.2.2. Biodistribution of samarium-153-EDTMP in rats treated with docetaxel <sup>1</sup> .....	30
5. COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E CONCLUSÕES .....	42
6. REFERÊNCIAS .....	46
ABSTRACT .....	52

## RESUMO

A esplenectomia é indicada em doenças hematológicas, hiperesplenismo grave, traumas e tem sido causa de importantes alterações metabólicas e imunológicas. O objetivo do presente trabalho é avaliar se a retirada do baço altera a biodistribuição do radiofármaco DMSA–Tc99m em ratos Wistar e se há correlação com possíveis alterações da função renal. Foram usados dois grupos: esplenectomia (n=6) e controle (n=6) animais não operados. Após 15 dias, foi administrado 0,1 ml de DMSA-Tc99m via plexo orbital (0,66 MBq). Trinta minutos depois, foram retiradas amostras do rim, coração, pulmão, tireóide, estômago, bexiga, fêmur, sangue. Após pesadas as amostras, foi determinado o percentual de radioatividade/g (% ATl/g) em cada uma delas, com o *Wizard Gama Counter Perkin-Elmer®*. Dosadas uréia e creatinina sérica, hematócrito, plaquetas e leucócitos. Estatística pelo teste t, com significância 0,05. Foi observada redução significativa no %ATl/g no rim e sangue ( $p < 0,05$ ) dos animais esplenectomizados, aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da uréia ( $88,8 \pm 18,6 \text{ mg/dL}$ ) e creatinina ( $0,56 \pm 0,08$ ), comparado aos controles ( $51,5 \pm 1,6$  e  $0,37 \pm 0,02 \text{ mg/dL}$ , respectivamente) assim como leucocitose, aumento de plaquetas e redução de hematócrito. Em conclusão, a esplenectomia provocou comprometimento da função renal, repercutindo na alteração da captação de DMSA–99mTc pelo rim de ratos. Uma parceria entre a Unidade de Medicina Nuclear da Liga Norterio-grandense Contra o Câncer e o Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Norte tornou possível a realização deste trabalho, que contou com a participação de profissionais de diferentes áreas como: Biologia, Biomedicina, Medicina Nuclear, Cirurgia Geral, Bioquímica e Estatística, atestando dessa forma o caráter multidisciplinar do trabalho.

**Palavras-chave:** Rim, Esplenectomia, Radiofármaco, Biodistribuição, Ratos.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1. O Radionuclídeo Tecnécio-99m .....	4
2.2. O Agente Redutor do pertecnetato .....	5
2.3. Ácido dimercaptossuccínico marcado com Pertecnetato de Sódio (DMSA- <sup>99m</sup> Tc).....	5
2.4. Biodistribuição de Radiofármacos.....	6
2.5. O Baço e a Esplenectomia .....	7
3. OBJETIVOS.....	9
4. ANEXAÇÃO DE ARTIGOS PUBLICADOS.....	10
4.1. ARTIGO PRINCIPAL .....	12
4.1.1. Influence of Splenectomy on the Biodistribution of Technetium-99m Dimercaptosuccinic acid (Tc-99m-DMSA) in Rats .....	12
4.2. OUTROS ARTIGOS PUBLICADOS EM COLABORAÇÃO.....	22
4.2.1. Biodistribution of the radiopharmaceutical Technetium-99m-sodium phytate in rats after splenectomy. ....	22
4.2.2. Biodistribution of samarium-153-EDTMP in rats treated with docetaxel <sup>1</sup> .....	30
5. COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E CONCLUSÕES .....	42
6. REFERÊNCIAS .....	46
ABSTRACT .....	52

## 1. INTRODUÇÃO

Técnicas utilizando radionuclídeos têm sido empregadas nos mais variados campos do conhecimento científico. Na área biomédica os radionuclídeos têm papel relevante no aprimoramento do diagnóstico e tratamento de doenças. O seu uso prático tem aumentado significativamente nos últimos anos desde a década de 60, com o emprego do Tecnécio<sup>99m</sup> (<sup>99m</sup>Tc). A relevância do <sup>99m</sup>Tc para a Medicina Nuclear deve-se a uma série de características de natureza química, física, econômica, médica e ambiental<sup>1</sup>. Por apresentar características como alta disponibilidade, facilidade de se ligar às hemácias, possibilidade de marcar espécies biológicas e estruturas celulares ou moleculares, baixo custo e impacto ambiental desprezível, tornou-se o isótopo mais utilizado na marcação de radiofármacos em Medicina Nuclear<sup>2,3</sup>.

Um radiofármaco é definido como uma substância que contém um átomo em sua estrutura e que, por sua arquitetura, qualidade de radiação emitida, torna-se apropriado para o uso em seres humanos com fins de diagnóstico e/ou tratamento<sup>4</sup>. A primeira etapa na preparação de radiofármacos é a produção de um radionuclídeo apropriado. Existem duas fontes principais para a produção de radionuclídeos, as quais são usadas nos procedimentos em Medicina Nuclear. A fonte primária envolve a produção direta de radionuclídeos. A fonte secundária é um método indireto de se produzir radionuclídeos usando um sistema de gerador, que é construído de modo que seja quimicamente fácil separar o radionuclídeo filho do radionuclídeo pai<sup>5</sup>. Vários aspectos teóricos e práticos de interação de fármacos terapêuticos com radiofármacos têm sido estudados por muitos pesquisadores utilizando modelos animais para avaliar as possíveis alterações na biodisponibilidade destes radiofármacos, induzidas por fármacos sintéticos<sup>6-8</sup> ou naturais<sup>9,10</sup> bem como intervenções cirúrgicas<sup>11</sup>.

A biodistribuição dos radiofármacos é baseada nos mesmos princípios farmacocinéticos descritos para os agentes terapêuticos. Assim, quando um radiofármaco é administrado concomitantemente ao uso de diferentes fármacos, ou após procedimentos operatórios, podem ocorrer alterações em sua biodistribuição, desviando-se do seu órgão alvo<sup>11,12</sup>. Em Medicina Nuclear o <sup>99m</sup>Tc é amplamente

utilizado em estudos estáticos e dinâmicos por meio de cintilografia<sup>3</sup>. Tem tendência a se acumular onde existe uma excessiva neovascularização, tendo como exemplo disso, os tumores cerebrais. Após administração IV, seu tempo de permanência nos tecidos permite estudos de hemodinâmica, lesões orgânicas e estudos vasculares<sup>13</sup>. É largamente utilizado no diagnóstico de doenças dos rins, bexiga, fígado, pulmões, intestinos, ossos, tireóide, fluxos sanguíneos, coração, etc. Logo, os radiofármacos em Medicina Nuclear são utilizados para obtenção de imagens com seletividade por um órgão e/ou sistema e a radiação emitida é captada externamente, transformada ou registrada em papel, filme ou monitor de vídeo<sup>3</sup>.

O baço é o maior órgão linfóide do organismo. Ao contrário dos linfonodos, o baço não recebe drenagem do sistema linfático, mas é conectado à circulação sistêmica. As funções do baço são muitas, classificadas em quatro categorias: funções de filtração, imunológica, de reservatório e hematopoiética. Em termos de função imunológica, o baço um órgão, entre outros tais como linfonodos e fígado, que garante proteção imunológica ao organismo. Muitas das funções imunológicas do baço, entretanto, estão em comum com os órgãos imunológicos. Por outro lado, várias funções dessa natureza são exclusivas do baço. Por exemplo, ele é mais eficiente na remoção de bactérias não opsonizadas, principalmente microrganismos encapsulados, do que o fígado. O baço é a principal fonte de síntese da imunoglobulina-M. A imunoglobulina-M sérica decresce seus níveis significativamente após a esplenectomia<sup>14</sup>. O baço é também a principal fonte de síntese de opsoninas, tuftsin e properdina. Os níveis séricos de tuftsin decrescem rapidamente após esplenectomia, e a deficiência de tuftsin pode preceder o hipoesplenismo, e coincidir com a asplenia<sup>15</sup>. É exatamente esta especificidade da função esplênica e a inabilidade de outros órgãos para compensar o déficit imunológico pós-esplenectomia, que resultam na seqüela imunológica, especialmente nas crianças e jovens.

Nas últimas décadas, tradicionais indicações para a esplenectomia total vêm sendo descartadas em razão da alta incidência de óbitos por sepse favorecida por esse procedimento cirúrgico, além da emergência de condutas alternativas capazes de solucionar as causas de tais indicações. No entanto, casos graves como pancitopenia persistente em níveis perigosos; doenças hematológicas com risco de complicações maiores, como hemorragias sistêmicas ou intracranianas

incontroláveis; hiperesplenismo grave; ou traumas que comprometam irreversivelmente o baço, ainda constituem indicações para a esplenectomia<sup>16</sup>. Os conhecimentos atuais dão respaldo à grande importância exercida pelo baço, com muitas funções já conhecidas e muitas outras a serem descobertas. A propósito, muito pouco se sabe a respeito da interação entre o baço e o rim, e as consequências da esplenectomia sobre esse órgão.

Estudos utilizando radionuclídeo é o método mais apropriado para estimar a função renal, pois acrescenta informação funcional importante ao estudo anatômico realizado pela ultrassonografia e estudos radiológicos. O ácido dimercaptosuccínico marcado com tecnécio-99m (DMSA - <sup>99m</sup>Tc) foi introduzido no início de 1970 e, desde então, tem sido o radiofármaco de escolha para imagens de alta resolução da córtex renal e para estimar a função do parênquima renal<sup>17</sup>. Alguns autores têm demonstrado excelente correlação entre a captação de <sup>99m</sup>Tc - DMSA e valores de *clearance* de creatinina<sup>18</sup>.

Desse modo, o presente trabalho procurou estudar a repercussão da esplenectomia na função renal através de dosagens bioquímicas de provas de função renal e da biodistribuição do DMSA - <sup>99m</sup>Tc no parênquima renal.



## 2. REVISÃO DA LITERATURA

A descoberta das radiações ionizantes e de elementos radioativos despertou de imediato o interesse de suas aplicações na Biologia e nas Ciências Médicas, em princípio pelo seu valor como meio para auxiliar o diagnóstico e o tratamento das doenças. O desenvolvimento da ciência tem gerado conhecimentos importantes para a manipulação e controle das substâncias radioativas, permitindo que os processos envolvidos na sua produção, no seu armazenamento e no seu uso se tornassem cada vez mais seguros. Alguns núclídeos existentes na natureza já são radioativos, enquanto outros podem ser produzidos em laboratório<sup>19</sup>. Os radionuclídeos, quando utilizados na área biomédica, têm possibilitado a elucidação de inúmeros fenômenos que ocorrem nos seres vivos, sendo administrados como radiofármacos amplamente utilizados em Medicina Nuclear, para diagnóstico e para terapia<sup>20</sup>. A utilização em medicina nuclear é interessante pelo fato das doses administradas, em diagnóstico, acarretarem uma baixa exposição do paciente a radiações, produzirem imagens de excelente qualidade e oferecerem informações sobre a função dos órgãos estudados<sup>21,22</sup>.

### 2.1. O Radionuclídeo Tecnécio-99m

O papel vital do  $^{99m}\text{Tc}$  no campo do diagnóstico em Medicina Nuclear já está bem estabelecido. A evolução do diagnóstico na Medicina Nuclear pode ser atribuída principalmente à existência e à versatilidade química do  $^{99m}\text{Tc}$ , o radiotraçador ideal, usado predominantemente de uma forma ou de outra na Medicina Nuclear. As propriedades do  $^{99m}\text{Tc}$  consistem de sua foto emissão gama de 140keV com 89% de eficiência, que é ótima para imagens com uso de gama câmeras da Medicina Nuclear. Sua meia vida de 6 horas é ideal para o preparo de radiofármacos, para efetuar o controle de qualidade e injeção nos pacientes para exames de imagem com mínima absorção de irradiação. A evolução rápida e o crescimento do setor Medicina Nuclear são atribuídos em grande parte às boas qualidades desse radionuclídeo<sup>23</sup>. Estas características físico-químicas têm permitido a marcação de inúmeras estruturas celulares e moleculares de interesse biomédico, envolvendo variadas funções químicas marcadas com esse

radionuclídeo<sup>24-27</sup>. O  $^{99m}\text{Tc}$  é obtido em gerador de  $\text{Mo}^{99}/\text{Tc}^{99m}$  com tecnologia desenvolvida no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Comissão Nacional de Energia Nuclear do Brasil e é distribuído para todos os Serviços de Medicina Nuclear do país, permitindo a sua utilização na rotina médica e em pesquisa com baixo custo, através de kits liofilizados<sup>2</sup>.

## 2.2. O Agente Redutor do pertecnetato

O processo de marcação de células e moléculas com o  $\text{Tc}^{99m}$ , normalmente necessita da utilização de um agente redutor, visto que o eluído obtido no gerador como íon pertecnetato ( $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ), não se liga facilmente a outras substâncias químicas. Por essa razão, torna-se necessária a redução deste radionuclídeo da valência +7 para valências mais baixas: +5, +4, +3<sup>28</sup>.

A redução do íon pertecnetato pode ser obtida através de diferentes agentes químicos, sendo o cloreto estanhoso ( $\text{SnCl}_2$ ) o agente redutor mais frequentemente utilizado para esta finalidade<sup>29,30</sup>. Possui uma eficiência de marcação do traçador radioativo superior a de outros agentes redutores, justificando sua preferência não só na medicina nuclear, mas também na marcação de diversas estruturas de interesse biomédico<sup>31, 32</sup>. Uma das características de importância biológica do  $\text{SnCl}_2$  consiste na sua capacidade de formar compostos catiônicos organometálicos de alta solubilidade lipídica, capacitando-os a atravessar membranas biológicas e a exercer seus efeitos no interior das células<sup>33-35</sup>.

## 2.3. Ácido dimercaptossuccínico marcado com Pertecnetato de Sódio (DMSA- $^{99m}\text{Tc}$ )

Após a administração intravenosa, o  $\text{DMSA-Tc}^{99m}$  é distribuído no compartimento vascular. Cerca de 75% dos íons pertecnetato ligam-se inicialmente às proteínas plasmáticas e esta ligação é reversível<sup>36</sup>. A eliminação plasmática é muito rápida e o equilíbrio entre o compartimento vascular e o fluido intersticial é completado em curto tempo, entre 2 a 3 minutos. A meia-vida de eliminação do plasma é de aproximadamente 30 minutos<sup>37</sup>. A dose administrada varia com o tipo de estudo a ser realizado, alternando de 1 a 25mCi. A cintilografia com  $\text{DMSA-Tc}^{99m}$

é atualmente o método padrão para avaliar lesões renais em crianças com doenças infecciosas das vias urinárias<sup>38, 39</sup>. O uso do DMSA-<sup>99m</sup>Tc para cintilografia da córtex renal foi introduzida na prática clínica em 1972<sup>40</sup>, e tem-se mostrado altamente sensível e específica para o diagnóstico de doenças renais na infância<sup>41, 42</sup>. Portanto, a cintilografia renal com DMSA-<sup>99m</sup>Tc tornou-se a técnica de imagem padrão para a detecção de lesões corticais, porque se tem mostrado com melhor sensibilidade e especificidade do que outras técnicas<sup>43</sup>. Sua alta sensibilidade é provavelmente causada pelo fato de que as alterações funcionais da córtex renal aparecem mais precocemente do que as lesões anatômicas. A diminuição da captação do DMSA-<sup>99m</sup>Tc na pielonefrite aguda é causada pela disfunção das células tubulares renais e pela isquemia. Lesões corticais são caracterizadas por defeitos simples ou multifocais de captação de DMSA-<sup>99m</sup>Tc, mas frequentemente podem ser observada diminuição de captação difusa. Em estudo da área pediátrica foi evidenciado que a cintilografia com DMSA-<sup>99m</sup>Tc detectou com grande sensibilidade e especificidade anormalidades renais em doenças da córtex renal em crianças, lesões essas não detectadas pela ultrassonografia<sup>44</sup>. Este tem sido o exame usual para diagnóstico de lesões renais<sup>44</sup>.

#### **2.4. Biodistribuição de Radiofármacos**

Quando um radiofármaco é administrado a um paciente, ocorre o processo de biodistribuição. Este processo consiste de (i) absorção, (ii) distribuição, (iii) metabolismo e (iv) excreção da substância. A biodistribuição ou farmacocinética dos radiofármacos pode ser alterada por uma variedade de procedimentos cirúrgicos<sup>45</sup>, medicamentos naturais e alopáticos administrados aos pacientes, ou por doenças.

Dentre os procedimentos cirúrgicos que afetam a biodistribuição dos radiofármacos, suspeita-se que a esplenectomia seja um deles, visto que já foi demonstrado que a mesma provoca alterações metabólicas no fígado (um dos órgãos relacionados com o metabolismo de fármacos), que podem repercutir sistemicamente, quando o fígado é submetido ao dano isquemia/reperfusão<sup>46</sup>. Entretanto, pouco se sabe a respeito dos efeitos da esplenectomia na função renal.

## 2.5. O Baço e a Esplenectomia

O baço corresponde à maior unidade do sistema mononuclear fagocitário, constituindo-se no maior acúmulo de tecido linfóide do organismo e o único órgão dessa natureza interposto na circulação sanguínea<sup>47</sup>. A alteração esplênica mais frequentemente detectada é a esplenomegalia, que corresponde a um sinal clínico importante e pode estar relacionada com: processos infecciosos, estados congestivos da hipertensão portal, distúrbios linfo-hematogênicos, condições imunológico-inflamatórias, doenças de armazenamento, neoplasias primárias e secundárias e outras<sup>48,49</sup>. Durante muito tempo as funções do baço permaneceram desconhecidas. Por ter sua importância pouco esclarecida e pelo fato de sua ausência ser compatível com a vida, até recentemente este órgão vinha sendo retirado indiscriminadamente no trauma e em diversas doenças hematológicas, sem que nenhuma contestação com base científica surgisse a respeito dos malefícios da esplenectomia<sup>50</sup>. A esplenectomia total era considerada a única opção terapêutica, independentemente do tipo e da extensão da afecção esplênica. Nas duas últimas décadas, os estudos sobre o baço tornaram-se progressivamente frequentes e a participação do órgão no sistema imunológico passou a ser bem conhecida, fazendo com que a cirurgia mais conservadora do tipo esplenectomia parcial e o autotransplante ganhasse adeptos<sup>52</sup>. O baço é o principal responsável pela fagocitose e pela depuração de partículas, bactérias, vírus, fungos e parasitas da corrente sanguínea<sup>51</sup>.

A esplenectomia é uma prática bem estabelecida para o tratamento das lesões traumáticas e de diversas doenças hematológicas; estão indicadas para púrpura trombocitopênica idiopática, anemia hemolítica autoimune, esferocitose hereditária, síndrome de Felty, esplenomegalia, tumores e cistos esplênicos. A literatura médica menciona outras indicações para a esplenectomia como, por exemplo, hipertensão portal, infecções parasitárias e outras doenças esplênicas específicas, como hemangiomas e abscessos<sup>53-55</sup>. Complicações após esplenectomia são frequentes. No trauma, o baço é quase sempre normal, de modo que não há razão para remover este importante órgão na sua totalidade<sup>56</sup>. As múltiplas complicações pós-esplenectomia, incluindo sepse grave, trombose do

sistema venoso porto-esplênico e morte precoce em consequência, estão bem descritas na literatura<sup>57-59</sup>. Entretanto, informações a cerca da repercussão da asplenia na função renal são quase inexistentes, fato que fez desencadear a pergunta: o rim tem participação na resposta pós-esplenectomia em modelo experimental?

### 3. OBJETIVOS

1. Avaliar se a ausência do baço altera a biodistribuição do radiofármaco DMSA-<sup>99m</sup>Tc em ratos *Wistar*.
2. Analisar se após esplenectomia ocorrem alterações nas provas bioquímicas de função renal.

#### 4. ANEXAÇÃO DE ARTIGOS PUBLICADOS

##### ARTIGO PRINCIPAL

##### **Influence of Splenectomy on the Biodistribution of Technetium-99m-Dimercaptosuccinic Acid (Tc-99mDMSA) in Rats.**

Maria Kadja Meneses Torres Açucena, Kércia Regina Santos Gomes Pereira, Arthur Villarim Neto, Amália Cíntia Meneses Rêgo, Ítalo Medeiros Azevedo, Irami Araújo Filho, Aldo Cunha Medeiros.

Publicado no Brazilian Archives of Biology and Tecnology. 2008;51:197-202.  
(QUALIS B2 – Indexação ISI)

##### OUTROS ARTIGOS PUBLICADOS (EM COLABORAÇÃO)

##### **1. Biodistribution of the radiopharmaceutical Technetium-99m-sodium phytate in rats after splenectomy.**

Kércia Regina Santos Gomes Pereira, Maria Kadja Meneses Torres Açucena, Arthur Villarim Neto, Amália Cíntia Meneses Rêgo, Ítalo Medeiros Azevedo, Irami Araújo Filho, Aldo Cunha Medeiros

Publicado no Brazilian Archives of Biology and Tecnology. 2008;51:203-207.  
(Qualis B2 – Indexação ISI)

## **2. Biodistribution of samarium-153-EDTMP in rats treated with docetaxel**

Arthur Villarim Neto, Maria Kadja Meneses Torres Açucena, Kércia Regina Santos Gomes Pereira, Amália Cíntia Meneses Rêgo, Ítalo Medeiros Azevedo, Mário Bernardo-Filho, Aldo Cunha Medeiros.

Publicado na Acta Cirúrgica Brasileira, 2009;24:62-66. (QUALIS B2 – Indexação ISI e MEDLINE)



## 4.1. ARTIGO PRINCIPAL

### 4.1.1. Influence of Splenectomy on the Biodistribution of Technetium-99m Dimercaptosuccinic acid (Tc-99m-DMSA) in Rats

**Maria Kadja Meneses Torres Açucena<sup>1\*</sup>, Kércia Regina Santos Gomes Pereira<sup>1</sup>, Arthur Villarim Neto<sup>1</sup>, Amália Cínthia Meneses Rêgo<sup>1</sup>, Mário Bernardo-Filho<sup>1</sup>, Ítalo Medeiros Azevedo<sup>2</sup>, Irami Araújo Filho<sup>2</sup>, Aldo Cunha Medeiros<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Av. Nilo Peçanha, s/n – 59012-300 Natal-RN, Brazil;* <sup>2</sup>*Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Cirurgia, Av. Nilo Peçanha, s/n – 59012-300, Natal-RN, Brazil*

#### ABSTRACT

*This study aimed to evaluate if the splenectomy alter biodistribution of 99mTc-DMSA and renal function in Wistar rats. Used groups: splenectomy (n = 6) and control (n = 6). After 15 days postsplenectomy, administration of 0.1 ml of 99mTc-DMSA IV (0.66MBq). Thirty minutes later, biopsies from kidney, heart, lung, thyroid, stomach, bladder, femur, blood. Samples were weighed and the percentage of radioactivity/g (%ATI/g) counted with Wizard Gamma Counter Perkin-Elmer. Serum urea and creatinine, hematocrit, leukocytes and platelets were measured. Statistics by t test, significance  $p < 0.05$ . There was a significant reduction in %ATI/g in kidney and blood ( $p < 0.05$ ) of splenectomized animals, a significant increase ( $p < 0.05$ ) of urea ( $88.8 \pm 18.6$  mg / dL) and creatinine ( $0.56 \pm 0.08$ ), compared to the controls ( $51.5 \pm 1.6$ ,  $0.37 \pm 0.02$  mg/dL, respectively) as well as leukocytosis, increase in platelets, and hematocrit reduction. Conclusion: in rats, splenectomy changed the renal function and the uptake of 99mTc-DMSA.*

**Key-words:** Splenectomy, Biodistribution, Technetium, Rats.

## INTRODUCTION

The spleen has a complex physiologic role, as evidenced by its multiple immunologic, filtration, reservoir, and hematopoietic functions. Several immunologic roles are uniquely exercised by the spleen. It is more efficient in removing non-opsonized bacteria, mostly encapsulated organisms, than is the liver. It is the main site of the opsonins, tuftsin and properdin, as well as of immunoglobulin-M antibody synthesis (Brendolan et al., 2007). Splenectomy has been indicated for trauma, tumor and hematological disorders (Petroianu, 2005). In some splenectomized patients severe infection and disseminated intravascular coagulation (DIC) with post-mortem congestion in every organ as well as bleeding may occur. Frequent causes of death are progressive renal failure, pneumococcal sepsis, DIC, hemorrhage, pulmonary and renal congestion (Tajiri et al., 2007). In spite of the evidence of renal complications in the postoperative of splenectomy, this problem has been scarcely studied.

<sup>99m</sup>Tc-dimercaptosuccinic acid (<sup>99m</sup>Tc-DMSA) scintigraphy is the standard method used to evaluate permanent renal damage in children with urinary tract infection (Stokland et al., 2007; Piepsz et al., 1999). The use of <sup>99m</sup>Tc-DMSA for renal cortical scintigraphy, introduced in the 1970s, has been shown to be sensitive and specific for diagnosing pyelonephritis in children (Majd & Rushton, 1992). Quantitative single-photon emission computed tomography (SPECT) measurement of <sup>99m</sup>Tc-DMSA uptake by the kidneys is a reproducible method that can reliably be used to monitor serial changes in individual renal function. The method provides information concerning the percentage injected dose per cubic centimeter of renal tissue and functional kidney volumes, and can obtain individual kidney uptake, which provides a practical index for evaluating individual renal function (Groshar et al., 1997). The renal uptake of <sup>99m</sup>Tc-DMSA is dependent on renal blood flow and proximal tubular cell membrane transport function (Taylor, 1982).

When a radiopharmaceutical is administered to a patient, the process of biodistribution begins; this consists of absorption, distribution, metabolism and excretion. The biodistribution and labeling of blood constituents by radiopharmaceuticals can be changed by surgical procedures performed in animal

models (Araújo-Filho et al., 2007; Chacon et al., 2007), and by phytotherapeutic and allopathic drugs (Rebello et al., 2007; Neves et al., 2007; Fonseca et al., 2007; Xavier-Holanda et al., 2006). The biodistribution of radiopharmaceuticals is based on the same pharmacokinetic principles described for therapeutic agents. So, when a patient is using a given drug, or was previously submitted to a surgical procedure, the biodistribution of a radiopharmaceutical injected intravenously to perform scintigraphy might change. It may bypass the target organ and undermine the effectiveness of image diagnostic methods of nuclear medicine (Braga et al., 2000).

Therefore, the present study aimed at investigating whether splenectomy, an operation that may alter immunology, coagulation and hematologic functions, could change the biodistribution of  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA to some organs, especially the kidney of rats. An additional objective was to determine if splenectomy could affect the red/white blood cell and platelet count, as well as renal function.

## **MATERIAL AND METHODS**

Male Wistar rats, weighing  $295\pm 31\text{g}$ , were supplied by the Center of Experimental Surgery of the Federal University of Rio Grande do Norte, Brazil. The animals were housed under standard conditions, and fed rodent chow and water *ad libitum*. The protocol for this study was approved by the Institutional Animal Care Committee, and all surgical procedures and care administered to the animals were in accordance with Brazilian College of Animal Experimentation guidelines. After 7 days of acclimatization in the laboratory, the rats were randomly allocated to two groups of 6 rats each. The groups were denominated splenectomy (SP) and control (C).

After overnight fast, the rats were anesthetized with intraperitoneal thiobarbital (20 mg/kg weight) and ketamine (50 mg/kg weight) IM. A midline laparotomy was performed after the skin was shaved and sterilized with 70% ethanol. The spleens of SP group rats were removed. The laparotomy wound was closed with 4-0 nylon in layers and individual rats were placed in separate cages. They were allowed water *ad libitum* and rat chow after 24 h postoperatively. The C rats (n=6) were neither anesthetized nor operated on. Hydration was performed with normal 0.9% saline (10 mL/100g weight) injected subcutaneously in the back of the rats for the first two postoperative days. Postoperative pain was treated with tenoxicam (Roche Pharm., Brazil); 10 mg/kg was given IM to the rats once a day for the first three days. Body

weight was monitored weekly throughout the entire 15-day experimental period. Activity, mucosa and skin color were observed daily.

On the 15th day all the animals were anesthetized again, and injected with 0.1mL of  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (corresponding to radioactivity of 0.66MBq) in the orbital plexus. After 30 min, blood was collected by cardiac puncture for dosages and the animals were killed by a lethal dose of anesthetic. Samples of the kidney, heart, lung, thyroid, stomach, bladder, femur and blood were harvested. The samples were washed in 0.9% saline, weighed on a high-precision digital scale (Bel-Mark 160-II Itália®) and subjected to radioactivity detection using a 1470 Wizard™ Gamma Counter - Perkin-Elmer, Finland, with automatic correction of radiation decline. The percentage of radioactivity/g (%ATI/g) of each organ was calculated by dividing the activity per gram of the sample tissues by the total activity administered to each animal.

Serum urea and creatinine were measured with a Konelab 60i Spectrophotometer (assay kit from Weiner, São Paulo, Brazil). Hematological analysis of hematocrit (HCT), white blood cells (WBC) and platelets was performed using an Abbot Cell Dyn 3500 Automatic Analyzer, São Paulo, Brazil. The data were expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD). Group comparison was made using ANOVA and the post-hoc Student test, with a significance level set at  $p<0.05$ .

## RESULTS

Table 1 shows significantly lower kidney and blood uptake levels of  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA in animals subjected to splenectomy, than those found in control rats ( $p<0.05$ ). The radioactive uptake predominated in the kidney and bone (femur), the main target tissues for  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA. Specifically, the lung demonstrated higher uptake in splenectomized rats than in controls ( $p=0.008$ ). In the other organs (heart, thyroid, stomach, bladder and femur) we did not detect significant differences in  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA uptake between splenectomized and control rats ( $p>0.05$ ).

Postsplenectomy symptoms such as hematuria, pale mucosa and lethargy were observed in 6 animals, but not in control rats. We observed no significant body weight loss in splenectomized rats, compared to controls.

**Table 1** - Results of <sup>99m</sup>Tc-DMSA biodistribution in each organ, and the p value to investigate the existence of statistically significant differences between splenectomy and control groups.

Organs	%ATI/g		p
	Splenectomy	Control	
Kidney	2.10 ± 0.30	3.27 ± 0.81	0.041
Heart	0.13 ± 0.04	0.12 ± 0.02	0.066
Lung	0.23 ± 0.05	0.12 ± 0.06	0.008
Thyroid	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.357
Stomach	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.225
Bladder	0.34 ± 0.43	0.42 ± 0.35	0.736
Femur	2.04 ± 0.01	1.93 ± 0.01	0.924
Blood	0.30 ± 0.09	0.53 ± 0.16	0.012

Mean±Standard deviation; %ATI/g, percent of radioactivity per gram.

**Table 2** – Values of urea, creatinine, platelets, hematocrit (HCT) and white blood cell (WBC) count at the 15<sup>th</sup> postoperative day following splenectomy, compared to controls.

Dosages	Splenectomy	Control	p
Urea (mg/dL)	88.3 ± 18.5	51.7 ± 1.3	0.01
Creatinine (mg/dL)	0.56 ± 0.08	0.37 ± 0.02	0.0014
Platelets (k/μL)	1252 ± 248	530 ± 251	0.002
HCT (%)	22.8 ± 4.7	46.8 ± 9.02	0.0002
WBC (k/μL)	15.2 ± 2.9	3.3 ± 0.8	<0.001

Mean±standard deviation; WBC, white blood cells; p-value from t test for independent samples; HCT, hematocrit.

To examine the effects of prior splenectomy on kidney injury, we assessed the levels of urea and creatinine. (Table 2). In splenectomized rats, urea and creatinine values

( $88.3 \pm 18.5$  mg/dL and  $0.56 \pm 0.08$  mg/dL respectively) were significantly ( $p < 0.05$ ) higher than in controls ( $51.7 \pm 1.3$  mg/dL and  $0.37 \pm 0.02$  mg/dL respectively). Changes in platelet and WBC counts are summarized in Table 2. At postoperative day 15, the number of platelets and WBC was significantly higher in splenectomized rats than in controls ( $p < 0.05$ ). Hematocrit was significantly lower in splenectomized rats ( $22.8 \pm 4.7\%$ ) than in controls ( $46.8 \pm 9.02\%$ ;  $p = 0.0002$ ).

## DISCUSSION

Splenectomy is recognized as having a significant immunomodulating effect, best described with regard to postsplenectomy sepsis and graft survival after renal transplant (Shaw & Print, 1989). During the last ten years, nonoperative management has become the primary method of preserving the spleen. Splenectomy is now required for around 50% of splenic trauma injuries (Velmahos et al., 2000). Sepsis following splenectomy, known as postsplenectomy infection syndrome and associated with a high mortality rate, is the most feared postoperative complication (Malangoni et al., 1984; Chhaikof & McCabe, 1985).

The white blood cell count (WBC) is an integral part of sepsis diagnosis. Early WBC trends alert the physician about the possibility of sepsis and allow prompt therapeutic response. However, postsplenectomy diagnosis of sepsis based on elevated WBC is confounded by the fact that leukocytosis is a physiologic response to splenectomy, similar to the phenomenon of elevated postsplenectomy platelet count (Bessler et al., 2004; Horowitz et al., 1992). Some reports suggest that postsplenectomy WBC in patients with sepsis is greater and more persistent than the WBC in patients without sepsis (Rutherford et al., 1994).

In our study, we sought to determine if splenectomy was able to change the biodistribution of Tc-99m-DMSA to some organs, especially to the kidneys, the preferential uptake target of this radiopharmaceutical. As all animals had hematuria, leukocytosis and a significant platelet increase, we suspect that the splenectomized animals were affected by sepsis associated with disseminated intravascular coagulation. Increased white blood cell count and platelets are frequently the only hematological abnormalities observed in splenectomized patients (Petroianu et al., 2006). The phenomenon of temporary leukocytosis following splenectomy has been well known for many decades as a physiologic response to removal of the spleen.

Leukocytosis is also a prominent finding of postoperative sepsis, a common and much feared complication of splenectomy. Therefore, confusion exists as to whether postsplenectomy leukocytosis should be considered a normal finding or a warning sign mandating treatment (Horowitz et al., 1992). Associated with hematuria, the animals in this study had significant kidney function impairment, due to the increase in urea and serum creatinine. These findings may explain the marked reduction in  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA uptake by renal parenchyma, reinforcing the characterization of postsplenectomy renal failure in rats.

Some physiological and pharmacological properties related to the radiobiocomplex sodium pertechnetate ( $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ) have been reported. After intravenous injection, it is weakly bound to serum proteins (70-80%). The pertechnetate ion ( $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ) diffuses slowly through the capillary membranes to the interstitial fluids, from where it is cleared by various organs. In the kidneys,  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  is filtered in the glomeruli, but 86% is reabsorbed in the proximal tubes. When associated with the radiotracer DMSA, the uptake will occur mainly in the kidneys. (Owunwanne et al., 1995; Zuckier et al., 2004).

Most investigators encourage using DMSA scintigraphy for the early diagnosis of many diseases, because of its cost-effectiveness and safety. A focal reduction or absence of uptake in one or more areas of the kidney is considered abnormal, indicating renal damage. In positive cases, DMSA scintigraphy is found to be highly sensitive in detecting multiple lesions (Piepsz et al., 1999; Stogianni et al., 2007). Besides leukocytosis and renal impairment evidenced by changes in urea and creatinine, we observed that the splenectomized animals had intense anemia associated with low hematocrit in all operated rats. In fact, they all showed clear signs of pale mucosa and hematuria at the 15th postoperative day. Certainly these hematologic findings contributed to the renal failure and to the low uptake of the radiopharmaceutical in the blood of splenectomized animals.

In conclusion, the results suggest that splenectomy in rats results in important hematological changes as well as impairment in renal function and  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA uptake.

## ACKNOWLEDEGMENT

The authors thank Michael Germain, from Canada, for his help in revision of English language.

## RESUMO

Estudo com objetivo de avaliar se a esplenectomia altera a biodistribuição do DMSA-Tc99m em ratos Wistar e a função renal. Usados 2 grupos: esplenectomia(n=6) e controle(n=6) animais não operados. Após 15 dias, administração de 0,1 ml de DMSA-Tc99m via plexo orbital (0,48 MBq). 30 minutos depois, retiradas biópsias rim, coração, pulmão, tireóide, estômago, bexiga, fêmur, sangue. Após pesadas as amostras, foi determinado o percentual de radioatividade/g (% ATI/g) em cada uma delas, com o *Wizard Gama Counter Perkin-Elmer*®. Dosadas uréia e creatinina sérica, hematócrito, plaquetas e leucócitos. Estatística pelo teste t, significância 0,05. Foi observada redução significativa no %ATI/g no rim e sangue ( $p < 0,05$ ) dos animais esplenectomizados, aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da uréia ( $88,8 \pm 18,6$ mg/dL) e creatinina ( $0,56 \pm 0,08$ ), comparado aos controles ( $51,5 \pm 1,6$ ;  $0,37 \pm 0,02$ mg/dL, respectivamente) assim como leucocitose, aumento de plaquetas e redução de hematócrito. Conclusão: em ratos a esplenectomia alterou a captação de DMSA-Tc99m pelo rim, e a função renal.

## REFERENCES

- Araújo-Filho, I.; Rego A. C. M.; Brandão-Neto J.; Villarim-Neto A.; Egito E. S. T.; Azevedo I. M.; Medeiros A. C. (2007), Biodistribution of the Radiopharmaceutical Sodium Pertechnetate after Biliopancreatic Bypass with a Duodenal Switch. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **50**, 189-197.
- Bessler, H.; Bergman, M.; Salman, H.; Beilin, B.; Djaldetti, M. (2004), The relationship between partial splenectomy and peripheral leukocyte count. *J. Surg. Res.*, **122**, 49-53.
- Braga, A.C.S.; Oliveira, M.B.N.; Feliciano, G.D.; Reiniger, I.W.; Oliveria, J.F.; Silva, C.R.; Bernardo-Filho, M. (2000), The effect of drugs on the labeling of blood elements with Technetium-99m. *Curr. Pharm. Des.*, **6**, 1179-1191.



- Brendolan, A.; Rosado, M.M.; Carsetti, R.; Selleri, L.; Dear, T.N. (2007), Development and function of the mammalian spleen. *Bioessays*, **29**,166-177.
- Chacon, D.A.; Araújo-Filho, I.; Villarim-Neto,A.; Rêgo,A.C.; Azevedo, I.M.; Bernardo-Filho, M.; Brandão-Neto, J.; Medeiros, A.C. (2007), Biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate (Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>) after massive small bowel resection in rats. *Acta Cir. Bras.*, **22**, 430-435.
- Chaikof, E.L.; McCabe, C.J. (1985), Fatal overwhelming postsplenectomy infections. *Am. J. Surg.*, **149**,53-58.
- Fonseca, A. S.; Frydman, J. N.; Rocha, V. C. and Bernardo-Filho, M. (2007), Acetylsalicylic acid decreases the labeling of blood constituents with technetium-99M. *Acta. Biol. Hung.*, **2**, 187-98.
- Groshar, D.; Moskovitz, B.; Issaq, E.; Nativ, O. (1997), Quantitative spect of DMSA uptake by the kidneys: assessment of reproducibility. *Kidney Int.*, **52**,817-820.
- Horowitz, J.; Leonard, D.; Smith, J.; Brotman, S. (1992), Postsplenectomy leukocytosis: physiologic or an indicator of infection? *Am. Surg.*, **58**,387-390.
- Majd, M.; Rushton, H.G. (1992), Renal cortical scintigraphy in the diagnosis of acute pyelonephritis. *Semin. Nucl. Med.*, **22**, 98–111.
- Malangoni, M.A.; Dillon, L.D.; Klamer, T.W.; Condon, R.E. (1984), Factors influencing the risk of early and late serious infection in adults after splenectomy for trauma. *Surgery.*, **96**,775-782.
- Neves, RF., Moreno, SRF., Rebello, BM., Caldas LQA., Fonseca AS., Bernardo-Filho M., Medeiros AC. (2007), Effect of an *Arctium lappa* (burdock) extract on the labeling of blood constituents with technetium-99m and on the morphology of the red blood cells. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **50**, 167-174.
- Owunwanne, A.; Patel, M.; Sadek, S. Preparation of radiopharmaceuticals. The handbook of radiopharmaceuticals. Chapman & Hall: London, 1995.
- Petroianu, A.; Petroianu, L.P. (2005), Splenic autotransplantation for treatment of portal hypertension. *Can. J. Surg.*, **48**,382-386.
- Petroianu, A.; Resende, V.; Da Silva, R.G. (2006), Late follow-up of patients submitted to subtotal splenectomy. *Int. J. Surg.*, **4**,172-178.
- Piepsz, A.; Blaufox, M.D.; Gordon, I. (1999), Consensus on renal cortical scintigraphy in children with urinary tract infection. *Semin. Nucl. Méd.*, **29**,160–174.
- Rebello, B.M.; Moreno, S.R.F.; Ribeiro, C.G., Neves, R.F., Fonseca, A.S., Caldas, L.Q.A., Bernardo-Filho, M., Medeiros, A.C. (2007), Effect of a peel passion fruit

- flour (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) extract on the labeling of blood constituents with technetium-99m and on the morphology of red blood cells. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **50**, 153-159.
- Rutherford, E.J.; Morris, J.A. Jr.; van Aalst, J.; Hall, K.S.; Reed, G.W.; Koestner, J.A. (1994), The white blood cell response to splenectomy and bacteraemia. *Injury*. **25**, 289-292.
- Shaw, J.H.; Print, C.G. (1989), Postsplenectomy sepsis. *Br. J. Surg.*, **76**:1074–1081.
- Stogianni, A.; Nikolopoulos, P.; Oikonomou, I.; Gatzola, M.; Balaris, V.; Farmakiotis, D.; Dimitriadis, A. (2007), Childhood acute pyelonephritis: comparison of power Doppler sonography and Tc-DMSA scintigraphy. *Pediatr. Radiol.*, **37**, 685–690.
- Stokland, E.; Jodal, U.; Sixt, R. (2007), Uncomplicated duplex kidney and DMSA scintigraphy in children with urinary tract infection. *Pediatr. Radiol.*, **37**, 826–828.
- Tajiri, T.; Tate, G.; Enosawa, T.; Akita, H.; Ohike, N.; Masunaga, A.; Kunimura, T.; Mitsuya, T.; Morohoshi, T. (2007), Clinicopathological findings in fulminant-type pneumococcal infection: report of three autopsy cases. *Pathol. Int.*, **57**, 606-612.
- Taylor, A. (1982), Quantitation of renal function with static imaging agents. *Semin. Nucl. Med.*, **12**,330-344.
- Velmahos, G.C.; Chan, L.S.; Kamel, E. (2000), Nonoperative management of splenic injuries. *Arch. Surg.*,**135**, 674-681.
- Xavier-Holanda, C. M. C.; Holanda-Leite, R. C.; Nunes, R. A. S. N.; Oliveira, H. A.; Catanho, M. T. J. A.; Souza, G. M. L.; Bernardo-Filho, M. (2006), Effect of antimalarial drugas on the bioavailability of the methylenediphosphonic acid labeled with technetium99m (99mTc-MDP) in wistar rats. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **49**, 207-214.
- Zuckier, L.S.; Dohan, O.; Li, Y.; Chang, C.J.; Carrasco, N.; Dadachova, E. (2004), Kinetics of perrhenate uptake and comparative biodistribution of perrhenate, pertechnetate, and iodide by tissues in vivo. *J. Nucl. Med.*, **45**, 500-507.

## 4.2. OUTROS ARTIGOS PUBLICADOS EM COLABORAÇÃO

### 4.2.1. Biodistribution of the radiopharmaceutical Technetium-99m-sodium phytate in rats after splenectomy.

Kércia Regina Santos Gomes Pereira<sup>1</sup>, Maria Kadja Meneses Torres Açucena<sup>1</sup>, Arthur Villarim Neto<sup>1</sup>, Amália Cínthia Meneses Rêgo<sup>1</sup>, Ítalo Medeiros Azevedo<sup>2</sup>, Irami Araújo Filho<sup>2</sup>, Aldo Cunha Medeiros<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Av. Nilo Peçanha, s/n – 59012-300 Natal-RN, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Cirurgia, Av. Nilo Peçanha, s/n – 59012-300, Natal-RN, Brasil; [aldo@ufrnet.br](mailto:aldo@ufrnet.br).

#### ABSTRACT

*Some drugs and surgery can interfere with the biodistribution of radiopharmaceuticals and data about the effect of splenectomy in the metabolism of phytate-Tc-99m are scarce. This study aimed to evaluate the interference of splenectomy on biodistribution of phytate-Tc-99m and liver function in rats. The SP group rats (n=6) underwent splenectomy. In group C(control) the animals were not operated. After 15 days, all rats were injected with 0.1mL of Tc-99m-phytate via orbital plexus (0.48MBq). After 30 minutes liver samples were harvested, weighed and percentage of radioactivity per gram (%ATI/g) was determined by gama counter Wizard Perkin-Elmer. The ATI%/g in splenectomized rats (0.99±0.02) was significantly higher than in controls (0.4±0.02), (p=0.034). ALT, AST and HDL were significantly lower in SP rats (p= 0.001) and leukocytosis was observed in SP rats. In conclusion, splenectomy in rats changed the hepatic biodistribution of Tc-99m-phytate and liver enzymatic activity.*

**Key words:** Splenectomy, Sodium phytate, Biodistribution, Liver

## INTRODUCTION

The spleen is well known to be the largest lymphoid organ in the body. The spleen's functions are many, but they are generally in 1 of 4 categories: filtration, immunologic, reservoir, and hematopoietic functions. Many of the spleen's immunologic functions, therefore, are in common with other immunologic organs. For example, the spleen is efficient at removing non-opsonized bacteria, mostly encapsulated organisms (Müftüoğlu et al., 2000). Splenectomy is frequently performed for a multitude of reasons, including trauma and various pathologic processes. Blunt abdominal trauma remains the most common indication for splenectomy, but patients with a variety of hematologic disorders also benefit from this procedure. Loss of the spleen, however, leads to a lifelong higher risk for sepsis and severe infection (Bader-Meunier et al., 2001, Waghorn et al., 1997) and may be associated with an increased rate of thromboembolic complications, enhanced arteriosclerosis, and late coronary heart disease (Schilling, 1997). It has been related that splenectomy might somewhat promote hepatic regeneration, prevent liver fibrosis (Akahoshi et al., 2002, Murata et al., 2001), reduce serum bilirubin concentration and improve liver function (Shimada et al., 2000, Lin et al., 1999). However, considering the relationship of spleen with the physiology of liver, the nuclear medicine may have an important role in studying the diagnose and physiology of liver after splenectomy.

Since its introduction some time ago, Tc-99m-phytate colloid has been used as an imaging agent for the liver and spleen (Huet et al., 1980). Subjective assessment of parameters such as the dimensions of the liver, colloid shift, and uptake of radiopharmaceutical in the bone marrow have been used for both diagnosis of liver diseases and evaluation of its progression. Subjective assessment of radiocolloid distribution has been shown to be unreliable, and quantitative techniques have been used to evaluate liver function (Jago et al., 1987). The distribution of radiocolloid uptake in the liver and bone marrow has been shown to correlate well with the severity of chronic liver disease, the severity of histologic fibrosis, prognosis, and hepatic function (Hoefs et al., 1997). Thus, quantitation of liver uptake of 99mTc-phytate colloid provides a practical index of hepatic function, by using planar and single photon emission computed tomography (SPECT) techniques (Strauss et al., 1984). The ability to quantitate individual organ volumes

and radiopharmaceutical concentrations with SPECT (Front et al., 1987, Iosilevsky et al., 1989) stimulates the use of Tc-99<sup>m</sup>-phytate colloid scintigraphy of the liver as a quantitative test of hepatic function. Biodistribution of radiopharmaceuticals may give important information about the uptake of them to some target organs but, after surgery are scarce (Chacon et al., 2007, Araújo-Filho et al., 2007).

This study aimed to evaluate if the splenectomy interferes with liver function and on the biodistribution of Tc-99<sup>m</sup>-phytate in the liver of Wistar rats.

## **MATERIALS AND METHODS**

*Animals:* Wistar male rats weighing 274±21g were obtained from Vivarium of Center for Health Sciences, UFRN, Brazil. The animals were housed in polypropylene cages and received standard rat chow and water *ad libitum*. Prior to surgery, rats were fasted overnight in separate cages. At the start of the study, after 7 days of acclimatization, the rats were allocated into two groups (each group, 6 animals). The groups were named splenectomy (SP) and control (C). The protocol for this study was approved by the Institutional Animal Care Committee, and the research was performed in accordance with the guidelines from Brazilian College of Animal Experimentation.

*Surgical procedure for splenectomy:* Rats were anesthetized with ketamine 50 mg/kg IM and thiopental 20 mg/kg IP, shaved and placed on an operative board and fixed with tapes. Midline laparotomy (3cm) was performed after skin sterilization with ethanol 70% and covering with a sterile small drape with a circle 6 cm aperture. In group SP (n=6) the spleen was identified and resected after the ligation of the spleen vessels with vicryl 5-0 (Ethicon, São Paulo, Brazil). The peritoneal cavity was irrigated with warm (37°C) normal saline. The laparotomy wound was closed with 4-0 nylon in layers and individual rats were placed in separate cages. They were allowed water *ad libitum* and rat chow 24 h postoperatively. The C rats (n=6) were not anesthetized neither operated. The hydration was done with normal saline (10 mL/100g weight) injected subcutaneously in the back of the rats for the first two postoperative days. Postoperative pain was treated with tenoxicam (Roche Pharm., Brazil); 10 mg/kg was given i.m. to the rats once a day for three days.

*Body weight and clinical observation:* Body weight was monitored weekly throughout the entire experimental period lasting 15 days. Activity, mucosa and skin color were observed daily.

*Radioactivity count:* Sodium pertechnetate ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ) was obtained by elution of a  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  generator (*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Comissão Nacional de Energia Nuclear, Brazil*), and  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -phytate was prepared. On the 15th day all the animals were anaesthetized again, and injected with 0.1mL of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -phytate in the orbital plexus, corresponding to radioactivity of 0.66MBq. After 30 min, blood was collected by cardiac puncture for dosages and the animals were killed by lethal dose of anesthetic. Samples of the liver were harvested. The samples were washed in 0.9% saline, weighed on a high-precision digital scale (Bel-Mark 160-II Itália®) and subjected to radioactivity detection using a 1470 Wizard™ Gamma Counter - Perkin-Elmer, Finland, with automatic correction of radiation decline. The percentage of radioactivity/g (%ATI/g) of each organ was calculated by dividing the activity/g of the hepatic tissue by the total activity administered to each animal.

*Laboratory analysis:* A blood sample was used for hematological analysis of white blood cells (Automatic Analyzer Abbot Cell Dyn 3500) and for the serum measure of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and lactic desidrogenase activity, using the Spectrophotometer Konelab 60i, (assay kit from Weiner, São Paulo, Brazil).

*Statistics:* The data were expressed as mean±standard deviation (SD). The comparison between groups were done using ANOVA and the post-hoc Student test, considering significant  $p < 0.05$ .

## RESULTS

Postsplenectomy symptoms such as hematuria, pale mucosa and lethargy were observed in 3 animals and these were not seen in control rats. We did not observe a significant body weight loss in splenectomized rats, comparing with controls. Radioactivity per gram of liver tissue ((%ATI/g) was increased by prior splenectomy in the SP group rats ( $0.99 \pm 0.2$ ), when compared to the control (C) group ( $0.4 \pm 0.2$ ). Comparing the groups, the difference was significant ( $p = 0.034$ ; Table 1). To examine the effects of prior splenectomy on liver function of rats, we assessed the levels of ALT, AST and LDH activity, as marker of liver injury, at 15 days after splenectomy (Table 1). In splenectomized rats rats, ALT, AST and LDH values were

markedly attenuated, compared with the control group rats ( $p=0.001$ ; Table 1). In addition, splenectomy resulted in increasing on white blood cells count in the SP rats ( $13.8 \pm 2.7$  k/ $\mu$ L), when compared to the C rats ( $2.5 \pm 0.9$  k/ $\mu$ L; Table 1).

**Table 1** – Results of percentage of radioactivity per gram (%ATI/g)of liver, hepatic enzymes activity and .

Exams	Splenectomy	Control	p <sup>(1)</sup>
Liver (%ATI/g)	0.99 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.2	0.034
ALT (UI/L)	114.6 $\pm$ 10.9	157.5 $\pm$ 13.2	0.001
AST (UI/L)	51.6 $\pm$ 7.8	62.0 $\pm$ 2.5	0.041
LDH (UI/L)	8.2 $\pm$ 2.4	16.1 $\pm$ 1.1	0.001
WBC (k/ $\mu$ L)	13.8 $\pm$ 2.7	2.5 $\pm$ 0.9	<0.001

Mean $\pm$ standard deviation; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; LDH, lactic dehydrogenase; p-value from t test for independent samples; WBC, white blood cells.

## DISCUSSION

Based on current knowledge, there is no doubt that the spleen is a lymphoid organ. Filtration, immunology, reservoir, and hematopoiesis are such important functions, that partial splenectomy or the preservation of the organ by suture are preconized in cases of traumatic injuries (Resende and Petroianu., 2003). Complications of various types and beneficial effects of the operation are described in the post-operative splenectomy (Cadili and Gara., 2008). Splenectomy might somewhat promote hepatic regeneration and prevent liver fibrosis (Murata et al., 2001, Chen et al., 1998).

In this study it was demonstrated that in splenectomized rats the biodistribution of <sup>99m</sup>Tc-phytate to the liver was higher than in controls, meaning that the operation favored the hepatic uptake of the radiopharmaceutic. This result coincided with the improvement in liver function, validated by the better alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and lactic dehydrogenase activities in splenectomized rats, compared with controls. In some studies splenectomy promoted hepatic regeneration (Akahoshi et al., 2002, Murata et al., 2001),

prevented liver fibrosis (Chen et al., 1998), reduced serum bilirubin concentration and, consequently, reflected the effect of splenectomy on reducing the burden of hepatocyte bilirubin metabolism, improving liver function (Shimada et al, 2000, Lin et al., 1999). Tomikawa et al (1996) reported that splenectomy increased the hepatocyte growth factor (HGF) activities in the plasma, suggesting that the spleen played an inhibitory role in hepatic regeneration. HGF, first identified as the most potent mitogen for primary hepatocytes, not only stimulates hepatic regeneration but also accelerates liver function. Moreover, the fact that a large amount of splenic tissue connects to liver tissue through the portal vein system, suggests the existence of a humoral factor originating from the spleen, which thus inhibits hepatic regeneration and promotes liver fibrosis. In rats submitted to hepatic ischemia/reperfusion, prior splenectomy ameliorated acute multiple organ damage (Jiang et al., 2007). These findings, associated to the favorable serum activity of ALT, AST and LDH in our splenectomized rats, in part explain the high hepatic biodistribution of  $^{99m}\text{Tc}$ -phytate in the operated animals.

The postsplenectomy diagnosis of sepsis based on white blood cell (WBC) elevation is confounded by the fact that leukocytosis is considered a physiologic response to splenectomy (Horowitz et al., 1992). Some reports suggest that WBC count postsplenectomy in patients with sepsis is greater and more persistent than the WBC in patients without sepsis (Weng et al., 2005, Rutherford et al., 1994).

In this study we were not able to diagnose sepsis in the splenectomized rats. Nevertheless, all the operated animals had leukocytosis (WBC ranging from 11 to 18  $\text{k}/\mu\text{L}$ ) in the 15<sup>th</sup> postoperative day. It has been related that by the fifth day following post-traumatic splenectomy, the WBC count may help the physician to confirm the development of sepsis and the need for treatment. If the WBC is greater than  $15 \times 10^3/\mu\text{L}$  on that day, the physician should seriously consider treatment by empiric antibiotics and further diagnostic work-up to prevent the untoward sequelae of postsplenectomy sepsis (Toutouzas et al., 2002).

In conclusion, in rats the splenectomy ameliorated the liver uptake of  $^{99m}\text{Tc}$ -phytate, coinciding with changing in hepatic enzymatic activity.

## RESUMO

O radiofármaco fitato- $^{99m}\text{Tc}$ . é usado no diagnóstico através de exames de imagem, na dependência de sua biodistribuição. O objetivo do trabalho foi avaliar efeito da esplenectomia na



biodistribuição do fitato-Tc-99m e função hepática em ratos Wistar. Sob anestesia e técnica asséptica, os animais do grupo SP(n=6) foram esplenectomizados. Grupo C(controle; n=6) não operado. Após 15 dias, injeção de 0,1ml de fitato-Tc-99m via plexo orbital (0,48MBq). Após 30 minutos, retiradas biópsias hepáticas para determinação do percentual de radioatividade/grama (% ATI/g), usando-se contador gama WizardPerkin-Elmer®. Realizada dosagem de ALT, AST e HDL, e leucometria. Estatística pelo teste t, significância 0,05. O %ATI/g nos ratos esplenectomizados foi  $0,99 \pm 0,2$  e nos controles  $0,40 \pm 0,2$  ( $p=0,034$ ). ALT, AST e HDL tiveram dosagens significativamente menores nos esplenectomizados ( $p=0,01$ ), com leucocitose, comparando com controles. Em conclusão, em ratos a esplenectomia provocou alteração na captação de fitato-Tc-99m pelo fígado, coincidindo com alteração da função hepática.

## REFERENCES

- Akahoshi, T., Hashizume, M., Tanoue, K., et al. (2002). Role of the spleen in liver fibrosis in rats may be mediated by transforming growth factor beta-1. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 17, 59-65.
- Araújo-Filho, I., Rego, A.C.M., Brandao-Neto, J., et al. (2007). Biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate after biliopancreatic bypass with a duodenal switch. *Braz. Arch.Biol.Ttechnol.*, 50,189-197.
- Bader-Meunier, B., Gauthier, F., Archambaud, F., et al. (2001). Long-term evaluation of the beneficial effect of subtotal splenectomy for management of hereditary spherocytosis. *Blood.*, 97,399–403.
- Cadili, A., Gara, C. (2008). Complications of splenectomy. *Am. J. Med.*, 121, 371-375.
- Chacon, D.A., Araújo-Filho, I., Villarim-Neto, A., et al. (2007). Biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ) after massive small bowel resection in rats. *Acta. Cir. Bras.*, 22, 430-435.
- Chen, D., Liu, W., Leng, E., Wu, B. (1998). Effect of splenectomy on CCl4-induced liver fibrosis in rats. *Chin. Med. J.*, 111, 779-783.

- Front, D., Ioselevsky G, Frenkel A, et al. (1987). In vivo quantitation using SPECT of radiopharmaceutical uptake by human meningiomas. *Radiology.*, 164,93–96.
- Hoefs, J.C., Wang, F., Kanel, G. (1997). Functional measurement of nonfibrotic hepatic mass in cirrhotic patients. *Am. J. Gastroenterol.*, 92,2054–2058.
- Horowitz J, Leonard D, Smith J, Brotman S. Postsplenectomy leukocytosis: physiologic or an indicator of infection? *Am Surg.* 1992;58:387-390.
- Huet, P-M., Chartrand, R., Marleau, D. (1980). Extrahepatic uptake of Tc-99m-phytate: its mechanism and significance in chronic liver disease. *Gastroenterology.*,78,76–80.
- Iosilevsky, G., Israel, O., Frenkel, A., et al. (1989). A practical SPECT technique for quantitation of drug delivery to human tumors and organ absorbed radiation dose. *Semin. Nucl. Med.*,19,33–46.
- Jago, J.R., Gibson, C.J., Diffey, B.L. (1987). Evaluation of subjective assessment of liver function from radionuclide investigations. *Br. J. Radiol.*, 60,127–132.
- Jiang H, Meng F, Li W, Tong L, Qiao, H Sun X. Splenectomy ameliorates acute multiple organ damage induced by liver warm ischemia reperfusion in rats. *Surgery* 2007;141:32-40.
- Lin, M.C., Wu, C.C., Ho, W.L., Yeh, D.C., Liu, T.J., Peng, F.K. (1999). Concomitant splenectomy for hypersplenic thrombocytopenia in hepatic resection for hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology.*, 46, 630-634.
- Müftüoğlu, T,M.; Köksal, N and Ozkutlu, D. (2000). Evaluation of phagocytic function of macrophages in rats after partial splenectomy. *J. Am. Coll. Surg.*, 191,668-671.
- Murata, K., Shiraki, K., Sugimoto, K., et al. (2001). Splenectomy enhances liver regeneration through tumor necrosis factor (TNF)-alpha following dimethylnitrosamine-induced cirrhotic rat model. *Hepatogastroenterology.*,48,1022-1027.
- Resende, V., Petroianu, A. (2003). Functions of the splenic remnant after subtotal splenectomy for treatment of severe splenic injuries. *Am. J. Surg.*, 185,311-315.

- Rutherford EJ, Morris JA Jr, van Aalst J, Hall KS, Reed GW, Koestner JA. The white blood cell response to splenectomy and bacteraemia. *Injury*. 1994;25:289-292.
- Schilling, R.F. (1997). Spherocytosis, splenectomy, strokes, and heart attacks. *Lancet.*, 350,1677–1678 .
- Shimada, M., Hashizume, M., Shirabe, K., Takenaka, K., Sugimachi, K. (2000). A new surgical strategy for cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma and hypersplenism. Performing a hepatectomy after a laparoscopic splenectomy. *Surg. Endosc.*, 14,127-130.
- Strauss, L.G., Clorius, J.H., Frank. T., Van Kaick, G. (1984). Single photon emission computerized tomography (SPECT) for estimates of liver and spleen volume. *J. Nucl. Med.*, 25,81–85.
- Tomikawa M, Hashizume M, Highashi H, et al. (1996). The role of the spleen, platelets, and plasma hepatocyte growth factor activity on hepatic regeneration in rats. *J. Am. Coll. Surg.*, 182,12–6.
- Toutouzas KG, Velmahos GC, Kaminsk A, Chan L, Demetriades D. Leukocytosis After Posttraumatic Splenectomy. A Physiologic Event or Sign of Sepsis? *Arch Surg*. 2002;137:924-929.
- Waghorn, D.J., Mayon-White, R.T. (1997). A study of 42 episodes of overwhelming post- splenectomy infection: is current guidance for asplenic individuals being followed? *J. Infect.*, 35,289 –294.
- Weng J, Brown CV, Rhee P, Salim A, Chan L, Demetriades D, Velmahos GC. White blood cell and platelet counts can be used to differentiate between infection and the normal response after splenectomy for trauma: prospective validation. *J Trauma*. 2005;59(5):1076-80.

#### **4.2.2. Biodistribution of samarium-153-EDTMP in rats treated with docetaxel<sup>1</sup>**

Biodistribuição de EDTMP-153-samário em ratos tratados com docetaxel

**Arthur Villarim Neto<sup>I</sup>, Maria Kadja Meneses Torres Açucena<sup>I</sup>, Kércia Regina Santos Gomes Pereira<sup>I</sup>, Amália Cínthia Meneses Rêgo<sup>I</sup>, Ítalo Medeiros Azevedo<sup>II</sup>, Mário Bernardo-Filho<sup>III</sup>, Aldo Cunha Medeiros<sup>IV</sup>.**

<sup>I</sup> Fellow PhD degree, Postgraduate Program in Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN), Brazil.

<sup>II</sup> Statistician, Department of Surgery, Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN), Brazil.

<sup>III</sup> PhD, Full Professor, Department of Biophysics and Biometry, State University of Rio de Janeiro, Brazil.

<sup>IV</sup> MD, PhD, Full Professor, Department of Surgery, UFRN, Brazil.

---

## **ABSTRACT**

**Purpose:** Many patients with metastatic bone disease have to use radiopharmaceuticals associated with chemotherapy to relieve bone pain. The aim of this study was to assess the influence of docetaxel on the biodistribution of samarium-153-EDTMP in bones and other organs of rats. **Methods:** Wistar male rats were randomly allocated into 2 groups of 6 rats each. The DS (docetaxel/samarium) group received docetaxel (15 mg/kg) intraperitoneally in two cycles 11 days apart. The S (samarium/control) group rats were not treated with docetaxel. Nine days after chemotherapy, all the rats were injected with 0.1ml of samarium-153-EDTMP via orbital plexus (25 $\mu$ Ci). After 2 hours, the animals were killed and samples of the brain, thyroid, lung, heart, stomach, colon, liver, kidney and both femurs were removed. The percentage radioactivity of each sample (% ATI/g) was determined in an automatic gamma-counter (Wizard-1470, Perkin-Elmer, Finland). **Results:** On the 9<sup>th</sup> day after the administration of the 2<sup>nd</sup> chemotherapy cycle, the rats had a significant weight loss (314.50 $\pm$ 22.09g) compared (p<0.5) to pre-treatment weight (353.66 $\pm$  22.8). The % ATI/g in the samples of rats treated with samarium-153-EDTMP had a significant reduction in the right femur, left femur, kidney, liver and lungs of animals treated with docetaxel, compared to the control rats. **Conclusion:** The combination of docetaxel and samarium-153-EDTMP was associated with a

lower response rate in the biodistribution of the radiopharmaceutical to targeted tissues. Further investigation into the impact of docetaxel on biodistribution of samarium-153-EDTMP would complement the findings of this study.

**Key words:** Docetaxel. Samarium. Bioavailability. Chemotherapy. Rat.

---

## RESUMO

**Objetivo:** Muitos pacientes com metastases ósseas são tratados com radiofármacos associados com quimioterapia para alívio da dor óssea. O objetivo do trabalho foi estudar a influência do docetaxel na biodistribuição do EDTMP-153-samário nos ossos e outros órgãos de ratos. **Métodos:** Ratos Wistar foram aleatoriamente alocados em 2 grupos de 6 animais cada. O grupo DS (docetaxel/samário) recebeu docetaxel (15 mg/kg) intraperitoneal em dois ciclos com 11 dias de intervalo. Os ratos do grupo S (samário/controle) não foram tratados com docetaxel. Nove dias após a quimioterapia, todos os animais receberam 0.1ml de EDTMP-153-samário via plexo orbital (25 $\mu$ Ci). Após 2 horas, os animais foram mortos e feitas biópsias de cérebro, tireóide, pulmão, coração, estômago, cólon, fígado, rim e fêmures. O percentual de radioatividade por grama (%ATI/g) de tecido de cada biópsia foi determinado em contador gama automático (Wizard-1470, Perkin-Elmer, Finland). **Resultados:** No 9<sup>o</sup> após 2<sup>o</sup> ciclo de docetaxel os ratos tiveram perda de peso significativa, passando de 353.66 $\pm$  22.8g (controle/pré-tratamento) para 314,50 $\pm$ 22,09g (p<0.5). Os % ATI/g nos órgãos dos ratos tratados com EDTMP-153-samário e docataxel tiveram redução significativa nos fêmures direito e esquerdo, rim, fígado e pulmão, quando comparados com os não tratados com docetaxel. **Conclusão:** A combinação de docetaxel com EDTMP-153-samário foi associada com resposta mais baixa na biodistribuição do radiofármaco em órgãos alvo. Futuras investigações sobre o impacto do docetaxel na biodistribuição do EDTMP-153-samário poderão complementar os achados teste estudo.

**Key words:** Docetaxel. Samário. Biodistribuição. Quimioterapia. Rato.

---

1. Research performed at the Postgraduate Program in Health Sciences, UFRN, Brazil.

### **Introduction**

Bone metastases are a frequent complication of cancer, occurring in up to 70% of patients suffering from advanced breast or prostate cancer<sup>1</sup>. Bone metastases patients often present with severe bone pain, especially in the advanced stage of disease<sup>1,2</sup>. The major pain mechanism of small metastases appears to be the stimulation of nerve endings in the endosteum by a variety of chemical mediators. Larger bone metastases produce stretching of the periosteum, which leads to pain<sup>2</sup>. The resulting bone pain interferes with the patient's quality of life and requires effective treatment. Unfortunately, various non-radiotherapeutic modalities such as analgesics, hormone therapy, orchidectomy, cytostatic and cytotoxic drugs, bisphosphonates, and surgery are not effective in all cases, especially in the late stage of the disease<sup>1,2</sup>. Systemic radionuclide therapy using bone-seeking radiopharmaceuticals is considered a valuable and effective method for treating patients with widespread skeletal metastases and increased bone turnover, especially in patients with bone metastases from prostate and breast cancer<sup>3,4,5</sup>.

In the 1980s the radiopharmaceutical samarium-153 ethylenediamine tetramethylene phosphonate (Sm-153-EDTMP) with short physical half-life was developed, and has been considered effective in the treatment of bone pain<sup>4,5</sup>. Docetaxel is one of the taxane class chemotherapies that is being increasingly used to treat various solid tumors, including those of prostate and breast cancer. It acts by Bcl-2 protein inactivation in the metastatic cells, causing the death of tumor cells by apoptosis<sup>6</sup>. In patients with prostate cancer, docetaxel has been suggested in various studies as the first-line choice for treating metastatic hormone-refractory disease. This treatment increases survival, compared to previously accepted chemotherapy schemes<sup>6</sup>.

A significant number of patients with metastatic bone disease are often subjected to a series of concomitant treatments, including the use of radioisotopes to relieve bone pain, associated with chemotherapy. Accordingly, the aim of this study was to assess the influence of docetaxel on the biodistribution of Sm-153-EDTMP,

especially in the bones of rats, enabling a more thorough knowledge of its applicability.

## Methods

We used male rats provided by the Health Science Center vivarium, Federal University of Rio Grande do Norte, Brazil. The animals were randomly allocated into 2 groups of 6 rats each. They were weighed and placed in individual cages with water and food (Labina Purina®) "ad libitum" and acclimatized in the lab for 7 days. The rats were kept under temperature (21°C), humidity (60 - 70%) and lighting (12 / 12 hour cycle light / dark) control and they were handled in accordance with International Standards of Care and Use of Laboratory Animals, following the guidelines of the Brazilian College of Animal Experimentation.

The animals of the DS group (docetaxel/samarium) were administered docetaxel (Trioxotene®, Novartis, São Paulo, Brazil), intraperitoneally, using a 15 mg/kg dose in two administration cycles 11 days apart. The S group (samarium/control) rats were not treated with docetaxel. The animals remained under observation for 9 days after the 2<sup>nd</sup> cycle and were then injected with 0.1 mL of Sm-153-EDTMP via the orbital plexus, corresponding to radioactivity of 925 Bq (25µCi). Two hours after radiopharmaceutical administration, the animals were killed with an anesthesia overdose (thiopental sodium, via the intracardiac cannula) and underwent surgery for removal of samples from the brain, thyroid, lung, heart, stomach, colon, liver, kidney and both femurs. The tissue samples were washed in 0.9% saline, weighed on a precision scale (Mark 160®, Bel equipment, Italy) and their radioactivity was determined in an automatic gamma counter (Wizard 1470, Perkin-Elmer, Finland). The results are shown in counts per minute (CPM), corrected by disintegrations per minute (DPM). The efficiency of the gamma counter was 86%, as specified by the manufacturer. The specific activity of each sample was calculated by dividing its absolute count in DPM by its weight (DPM/g). The percentage of radioactivity of each sample (% ATI/g) was calculated by dividing its specific activity (DPM/g) by the total radioactivity injected in each animal. The total activity

administered to each animal was calculated from the average of three patterns with the same volume injected.

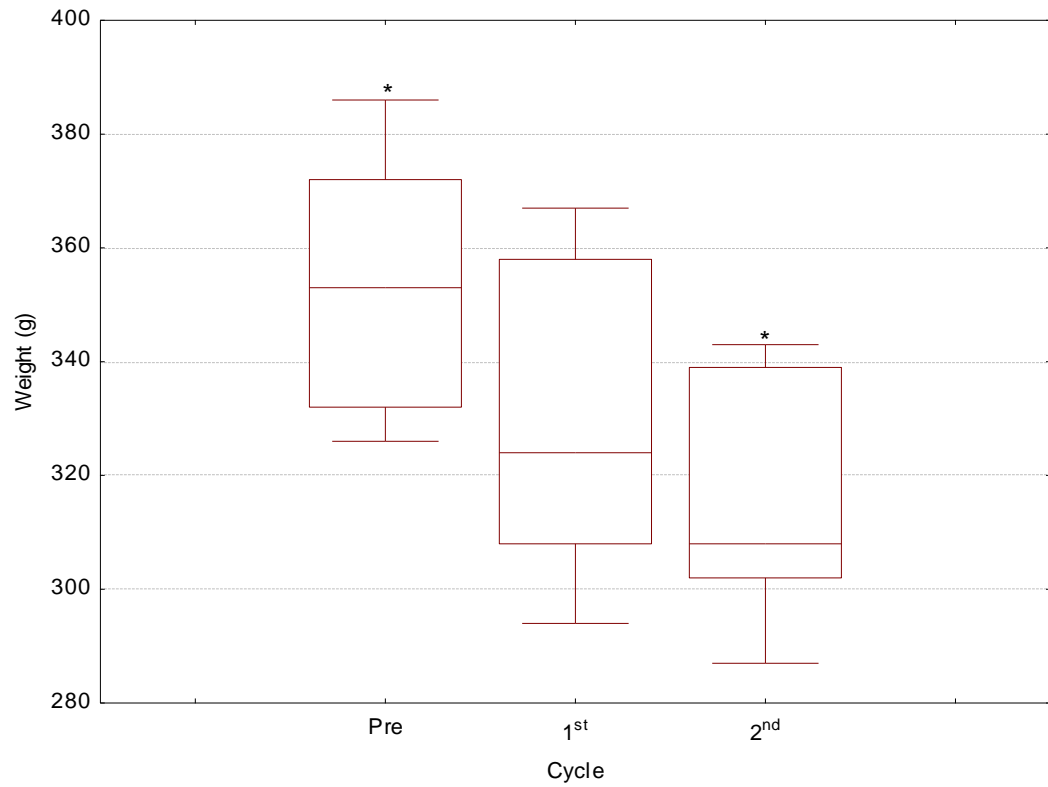
The data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation. Statistical analysis for comparison between groups was performed by the Student and Tukey tests, using a significance level of 0.05.

## Results

No animal died during the experiment. On the eleventh day after the 1<sup>st</sup> chemotherapy cycle with docetaxel, the animals showed weight loss (mean  $329.16 \pm 29.2$  g), but not significantly different from pre-treatment weight (mean  $353.66 \pm 22.8$ ). Meanwhile, on the 9<sup>th</sup> day after administration of the 2<sup>nd</sup> chemotherapy cycle, there was significant weight loss ( $314.50 \pm 22.09$ g) compared to pre-treatment weight (Figure 1). We observed no changes in animal behavior or side effects, such as diarrhea and hair loss. During the laparotomy to remove organ samples, few peritoneal adhesions were observed in DS group rats. No macroscopic changes were detected in the abdominal organs.

The analysis of the percentage of total activity of Sm-153-EDTMP injected per gram of tissue (% ATI/g) in the samples analyzed showed greater radiopharmaceutical activity in the liver, kidney, right femur, left femur and thyroid, when compared to other organs, in both the DS group (treated with docetaxel) and control group S (Table 1). In the rats treated with docetaxel, the Sm-153-EDTMP activity was smaller in all the organs studied, when compared to the control group, except in the brain. Using the Student t-test, we showed that this reduction was statistically significant in the right femur, left femur, kidney, liver and lungs of animals treated with docetaxel, compared to the control group rats ( $p < 0.05$ ). Consequently, there was no significant reduction in radioactivity biodistribution in brain, thyroid, heart, stomach and colon samples (Table 1).





**FIGURE 1** – The evolution of rats weight comparing pretreatment and after the first (1<sup>st</sup>) and second (2<sup>nd</sup>) post-docetaxel treatment.

\* Significant difference,  $p < 0.05$ , Tukey test.

**TABLE 1-** Comparison of percentage of radioactivity/g (% ATI/g) of samples from each organ of rats treated with Sm-153-EDTMP (group S) and with docetaxel + Sm-153-EDTMP (group DS) .

Organs	% ATI/g		p
	Group S	Group DS	
Brain	0.01 ± 0.002	0.01 ± 0.005	0.753022
Thyroid	0.40 ± 0.079	0.30 ± 0.066	0.07301
Lung	0.17 ± 0.033	0.13 ± 0.025	0.043126
Heart	0.12 ± 0.019	0.11 ± 0.019	0.300239
Stomach	0.18 ± 0.042	0.14 ± 0.032	0.091458
Colon	0.13 ± 0.041	0.11 ± 0.038	0.484202
Liver	1.48 ± 0.187	0.96 ± 0.267	0.007438
Kidney	1.21 ± 0.160	0.86 ± 0.144	0.007411
Femur (right)	0.73 ± 0.105	0.46 ± 0.093	0.002484
Femur (left)	0.72 ± 0.004	0.50 ± 0.086	0.003599

Mean ± SD, Student t test. S, samarium; DS, docetaxel+samarium.

## Discussion

Bone pain is a common symptom of metastatic cancer and may be difficult to control with analgesic medication alone. Systemic agents such as chemotherapy, bisphosphonates and hormonal therapy, as well as external beam radiation in the form of hemibody or focal bone irradiation are also used as palliative measures to control metastatic bone pain<sup>7</sup>. Radiation in the form of radiopharmaceuticals has been investigated for the relief of bone metastasis pain and several systemically administered beta-emitters have been evaluated for the treatment of painful bone metastases, two of which (<sup>32</sup>P and <sup>89</sup>Sr) have been studied extensively<sup>7</sup>. Both agents are effective in relieving pain from osteoblastic metastases, but they have properties that limit their usefulness. The very high beta energy of <sup>32</sup>P coupled with a low lesion-to-normal bone ratio has inhibited widespread use of this radiopharmaceutical as a palliative agent for bone pain<sup>7</sup>. The long physical half-life of <sup>89</sup>Sr (50.5 days) results in a slow delivery of the radiation dose. Consequently, the onset of pain relief may not occur for several weeks after administration<sup>8</sup>. The long

half-life can also produce a prolonged and variable suppression of hematopoietic elements<sup>8</sup>, limiting the availability or efficacy of concurrent myelosuppressive therapies (e.g. external radiation, surgery or chemotherapy) that these patients frequently require. Therefore, we used <sup>153</sup>samarium in this study because of its physical and biological properties, ease of use in laboratory, as well as its efficacy in treating bone pain<sup>5</sup>. The physical half-life of <sup>153</sup>Sm is 46.3 h, and its beta particle has a maximum range of 1.7 mm in bone and 3.1 mm in soft tissue. The gamma emission at 103 keV (29% abundance) is suitable energy for imaging using standard scintigraphic cameras, and is low enough to result in minimal external exposure levels when administered at therapeutic levels<sup>9</sup>. Although many radiopharmaceuticals have been examined for bone pain palliation, samarium-153 has been the most extensively examined in clinical trials. The advantages of radiopharmaceutical use include the ease of administration, the ability to treat multiple sites of metastatic disease, the improved potential therapeutic ratio due to bone location and the potential of combining with chemotherapy agents and external beam radiation for an enhanced therapeutic effect<sup>4,5</sup>. A subset of trials has suggested improved pain palliation by combining a radiopharmaceutical agent with chemotherapy<sup>4,5,12</sup>.

Taxanes (docetaxel and paclitaxel) are currently one of the most extensively studied new chemotherapeutic agents for metastatic breast cancer. Single-agent docetaxel has demonstrated significant survival advantages over other recognized regimens in two trials involving patients with anthracycline-pretreated metastatic breast cancer<sup>10</sup>. Some data suggest that docetaxel is one of the most active agents available for treating these patients<sup>11</sup>.

The primary objective of this study was to evaluate if combined chemotherapy interferes with the biodistribution of Sm-153-EDTMP to bone and other organs. It was based on the possibility of using Sm-153-EDTMP combined with docetaxel for the treatment of bone metastasis pain in patients with prostate or breast cancer. Recently, Ricci et al<sup>12</sup> reported that Sm-153-EDTMP is effective in bone pain relief, with minimal toxicity. When administered in combination with chemotherapy (estramustine phosphate or mitoxantrone plus prednisone), it prolonged survival.

Many factors, such as drug therapy, radiation therapy, surgery, in addition to the pathological process, could affect the biodistribution of different radiopharmaceuticals<sup>13-15</sup>. In this work, when Sm-153-EDTMP was administered to rats previously treated with docetaxel, the biodistribution of the radiopharmaceutical

to bone, kidney, liver and lung was significantly lower than that of controls. Based on these data, we can infer that an additional dose of Sm-153-EDTMP may be necessary to get the desired pain relief effect when docetaxel is used in combination with this radiopharmaceutical. It was reported that the average duration of bone pain palliation in patients treated with Sm-153-EDTMP alone was about 3–4 months, while it was about 9–10 months in patients who started receiving estramustine phosphate or mitoxantrone plus prednisone after treatment with the bone-seeking radionuclide<sup>12</sup>. However, information about the clinical effect of docetaxel associated to Sm-153-EDTMP is scarce. The results obtained in the present work provide a rationale for further studies aimed at assessing combined chemotherapy and bone-targeted radiotherapy (docetaxel plus Sm-153-EDTMP) as a therapeutic strategy in patients with advanced hormone resistant prostate cancer.

In conclusion, the combination of docetaxel and Sm-153-EDTMP was associated with a lower response rate in the biodistribution of the radiopharmaceutical to targeted tissues. Further investigation into the impact of docetaxel on the biodistribution of Sm-153-EDTMP would complement the findings of this study.

## References

1. Liepe K, Runge R, Kotzerke J. The benefit of bone-seeking radiopharmaceuticals in the treatment of metastatic bone pain. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2005; 131:60-6.
2. Nielsen OS, Munro AJ, Tannock IF. Bone metastases: pathophysiology and management policy. *J Clin Oncol*. 1991; 9:509–24.
3. Sapienza MT, Ono CR, Guimaraes MI, Watanabe T, Costa PA, Buchpiguel CA. Retrospective evaluation of bone pain palliation after samarium-153-EDTMP therapy. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo*. 2004; 59:321-8.
4. Ubieto MA, Abos MD, Tardin AL, Razola P, Prats E, Garcia F, Polo E, Yubero A, Banzo J. Treatment of bone metastatic pain with Sm-153-EDTMP. Evaluation

of the analgesic response and the existence of differences according to the primary tumor and the metastatic pattern. *Rev Esp Med Nucl.* 2005;24:297-304.

5. Serafini AN. Systemic metabolic radiotherapy with samarium-153 EDTMP for the treatment of painful bone metastasis. *Q J Nucl Med.* 2001;45:91-9.
6. Petrilak DP, Pangen CM, Hussain MH, Lara PN Jr, Jones JA, Taplin MA, Burch PA, Berry D, Moinpour C, Kohli M, Benson MC, Small EJ, Raghavan D, Crawford ED. Docetaxel and estramustine compared with mitoxantrone and prednisone for advanced refractory prostate cancer. *N Engl J Med.* 2004;351:1513-20.
7. Serafini AN. Current status of systemic intravenous radiopharmaceuticals for the treatment of painful metastatic bone disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1994; 30: 1187-94.
8. Laing AH, Ackery DM, Bayly RJ, Buchanan RB, Lewington VJ, McEwan AJ, Macleod PM, Zivanovic MA. Strontium-89 chloride for pain palliation in prostatic skeletal malignancy. *Br J Radiol.* 1991; 64: 816-22.
9. Eary JF, Collins C, Stabin M, Vernon C, Petersdorf S, Bakre M, Hartnett S, Ferency S, Addison SJ, Appelbaum F. Samarium-153-EDTMP biodistribution and dosimetry estimation. *J Nucl Med.* 1993; 34:1031-6.
10. Mabholtz JM, Senn HJ, Bezwoda WR, Melnychuk D, Deschenes L, Douma J, Vandenberg TA, Rapoport B, Rosso R, Trillet-Lenoir V, Drbal J, Molino A, Nortier JW, Richel DJ, Nagykalnai T, Siedlecki P, Wilking N, Genot JY, Hupperets PS, Pannuti F, Skarlos D, Tomiak EM, Murawsky M, Alakl M, Aapro M. 304 Study Group: Prospective randomized trial of docetaxel versus mitomycin plus vinblastine in patients with metastatic breast cancer progressing despite previous anthracycline-containing chemotherapy. *J Clin Oncol.* 1999;17:1413-24.
11. Crown J: A review of the efficacy and safety of docetaxel as monotherapy in metastatic breast cancer. *Semin Oncol.* 1999;26(1 Suppl 3):5-9.
12. Ricci S, Boni G, Pastina I, Genovesi D, Cianci C, Chiacchio S, Orlandini C, Grosso M, Alsharif A, Chioni A, Di Donato S, Francesca F, Selli C, Rubello D, Mariani G. Clinical benefit of bone-targeted radiometabolic therapy with <sup>153</sup>Sm-

EDTMP combined with chemotherapy in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2007;34:1023-30.

13. Brito DMM, Gomes ML, Rodrigues PC, Paula EF, Gutfilen B, Bernardo-Filho M. Effect of the chemotherapeutic drugs on the biodistribution of <sup>99m</sup>Tc-DTPA in Balb/c mice. *J Exp Clin Cancer Res*. 1998;17:313-6.
14. Holanda CMCX, Leite RCH, Catanho MTJ, Souza GM, Bernardo-Filho M. The effect of glucantime™ on the labeling of blood constituents with technetium-99m. *Acta Cir Bras*. 2005;20:81-5.
15. Chacon DA, Araújo-Filho I, Villarim-Neto A, Rêgo AC, Azevedo IM, Bernardo-Filho M, Brandão-Neto J, Medeiros AC. Biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate (Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>) after massive small bowel resection in rats. *Acta Cir Bras*. 2007;22:430-5.

---

Correspondence:

none

Aldo Cunha Medeiros

CNPq

Ave. Miguel Alcides Araújo 1889

59078-270 Natal-RN, Brazil

[aldo@ufrnet.br](mailto:aldo@ufrnet.br)

Conflict of interest:

Financial source:

---

## 5. COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E CONCLUSÕES

O ingresso no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UFRN contribui imensamente para o crescimento na área da pesquisa básica e na visão crítica e prática dos profissionais que atuam na Medicina Nuclear. Diversas etapas foram imprescindíveis para o desenvolvimento de uma visão crítica sobre todos os temas abordados durante o mestrado, dentre elas destacam-se a convivência no laboratório, a troca de experiências com profissionais de diferentes áreas de conhecimento, o aprendizado de diversas metodologias científicas.

Acredita-se que os resultados contidos neste trabalho possam contribuir para uma melhor compreensão dos possíveis efeitos da esplenectomia e, dessa forma, auxiliar os profissionais da área de Medicina Nuclear com novos conhecimentos e parâmetros que possam interferir no diagnóstico e tratamento dos pacientes. Especificamente na área da cirurgia do baço, pois até então o tema tinha sido pouco explorado na literatura no que diz respeito aos efeitos da asplenia na função de órgão tão importante como o rim.

Desde a elaboração do projeto inicial, a meta era procurar resposta para a pergunta: a ausência do baço pode interferir na função renal? Nenhuma modificação foi feita no projeto durante a realização do experimento, pois estudo piloto previamente planejado assegurou a viabilidade do trabalho. A princípio, houve a pretensão de manter os animais por pelo menos 30 dias após a esplenectomia. Entretanto, observou-se uma mortalidade elevada após o 15º dia de pós-operatório, especialmente nos ratos machos, o que fez com que ficasse definido o tempo de observação de 15 dias para todos os animais.

Os ratos *Wistar* foram escolhidos como unidades do modelo experimental, pois a maioria dos trabalhos disponíveis na literatura, tratando-se de esplenectomia, tem sido realizada com a utilização desses animais<sup>51,52</sup>. São de fácil aquisição e manutenção no laboratório, a um custo relativamente baixo. Neste trabalho foram utilizados dois grupos de animais: o grupo experimental, cujos ratos foram submetidos à esplenectomia e o grupo controle, com animais não anestesiados nem operados. Um terceiro grupo (grupo simulação ou

*sham*) poderia ter sido acrescentado, submetido à anestesia e laparotomia, sem esplenectomia.

Entretanto, como os resultados coletados nos dois grupos estudados apresentaram dados com diferenças muito significantes, com valores de  $p$  muito baixos, optou-se por não utilizar um terceiro grupo, reduzindo o número de animais, sem comprometer a análise dos resultados.

No projeto piloto detectou-se e corrigiu-se uma variação na atividade radioativa injetada nos animais. Esta variação ocorreu devido a um pequeno volume com uma quantidade não desprezível de atividade radioativa remanescente na seringa após injeção. Esse problema foi solucionado quando foi estabelecido um padrão, formado pela atividade radioativa média em três tubos de ensaio, cada tubo com o conteúdo de uma seringa contendo o radiofármaco na mesma atividade radioativa empregada durante o estudo, simulando a situação real encontrada ao se injetar o radiofármaco no animal.

Este é um trabalho preliminar que pode desencadear uma série de outros utilizando o mesmo modelo, em busca de resposta para dúvidas que surgiram no decorrer dos experimentos. Futuros estudos deverão esclarecer, por exemplo, o porquê da alta frequência de hematúria pós-esplenectomia, e da alta mortalidade nos ratos machos, observada na fase do estudo piloto, onde os animais foram observados inicialmente por mais de 15 dias.

A análise estatística mostrou-se adequada, com utilização de testes que se adequaram aos dados coletados, não deixando dúvidas para a equipe multidisciplinar quanto à correta interpretação dos mesmos.

O presente trabalho apresentou-se relevante para esclarecer vários aspectos sobre o tema em estudo e acredita-se que os profissionais em Medicina Nuclear tenham disponíveis na literatura novos parâmetros sobre os efeitos da biodistribuição de radiofármacos após o procedimento cirúrgico aqui estudado. Dessa forma, deseja-se também que as informações levantadas nesta pesquisa sirvam de ponto de partida para novos estudos sobre a avaliação de mecanismos de ação que possam explicar os resultados obtidos.

Os exames em Medicina Nuclear podem apresentar alterações devido à interação de alguma substância presente em alguns fármacos ou pela alteração fisiológica após algum procedimento cirúrgico<sup>8-12</sup>. Portanto, isso pode



implicar em diagnóstico impreciso, ou na repetição de exames, expondo o paciente e a equipe profissional a doses excessivas de radiação.

A experiência na área de Medicina Nuclear, aliada à necessidade de uma maior qualificação, despertou o interesse da autora desse estudo na busca por um curso de mestrado, e que após tal conquista torna-se importante salientar que houve considerável enriquecimento intelectual e científico e que, em seguida, a mesma deseja cursar o doutorado.

É importante ressaltar a parceria com a Unidade de Medicina Nuclear da Liga Norteriograndense Contra o Câncer na realização deste trabalho, pois o material radioativo foi fornecido pela mesma, depois de adquirido do Instituto de Pesquisa em Energia Nuclear (IPEN), órgão de competência da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN).

É importante mencionar que como houve o manuseio, a produção, a posse e a utilização de fontes radioativas, bem como o transporte, o armazenamento e o descarte desses materiais radioativos, fez-se necessário obedecer à norma CNEN-NN-3.01. Esta norma tem como objetivo estabelecer os requisitos básicos de proteção radiológica das pessoas em relação à exposição à radiação ionizante. Dessa forma, houve uma exposição normal e mínima, que é a exposição esperada em decorrência de uma prática autorizada.

A autora tem a pretensão de continuar a colaboração com o Núcleo de Cirurgia Experimental da UFRN e, desta forma, contribuir na execução de novos projetos na mesma linha de pesquisa. A vivência e experiência adquiridas nesses anos de curso de Mestrado proporcionaram conhecimento científico e profissional, despertando a pretensão em atuar como educadora, principalmente na busca do conhecimento comprovado cientificamente e digno de crédito. Portanto, com a aquisição de novos conhecimentos e com a pretensão em fazer um doutorado, tudo isso poderá ser relevante para ações em projetos futuros junto a grupos de pesquisa da UFRN e/ou Liga Contra o Câncer e dessa forma na orientação de alunos nos programas de iniciação científica e pós-graduação.

Durante o período de dois anos, foram publicados 03 artigos científicos, em periódicos com indexação internacional, que se encontram anexados a esta

dissertação, o que contribuiu com o enriquecimento da autora do ponto de vista crítico e científico, correspondendo às expectativas e tornando possível o cumprimento de um cronograma previamente estabelecido.

Conclui-se, então, que este trabalho contribuiu para evidenciar novos conhecimentos a respeito da repercussão da esplenectomia na função renal e na biodistribuição de radiofármaco no modelo experimental utilizado. Adicionalmente, o Programa de Pós-Graduação de Ciências da Saúde cumpriu sua missão de contribuir substancialmente com a formação da autora.

## 6. REFERÊNCIAS

1. Early P J, Sodee DB. Principles and Practice of Nuclear Medicine. 2 ed. London, Mosby, 1995, p. 50-112.
2. Bernardo-Filho, M. Parâmetros físicos, químicos e biológicos associados à marcação de radiotraçadores com Tecnécio-99m. Tese (Professor Titular), Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro - Brasil, 1999.
3. Saha GB. Fundamentals of Nuclear Pharmacy. 5<sup>th</sup> ed. New York, Springer-Verlag, 2004, p.46-128.
4. Perkins A, Frier M. Nuclear Medicine Pharmaceutical Research. London, Taylor & Francis, 1999.
5. Owunwanne A, Patel M, Sadek S. The Handbook of Radiopharmaceuticals. New York, Chapman and Hall Medical, 1995.
6. Gomes ML, Braga ACS, Mattos DMM, Freitas RS, Boasquevisque EM, Bernardo-Filho M. The effect of mitomycin-C on the biodistribution of <sup>99m</sup>Tc-MDP in Balb/c mice. Nucl Med Commun. 1998;19:1177-9.
7. Hesslewood S, Leung E. Drug interaction with radiopharmaceuticals. [Eur J Nucl Med](#). 1994;21:348-52.
8. Villarim Neto A, Açucena MK, Pereira KR, Rêgo AC, Azevedo IM, Bernardo-Filho M, Medeiros AC. Biodistribution of samarium-153-EDTMP in rats treated with docetaxel. Acta Cir Bras. 2009;24:62-6.
9. Diré G, Lima E, Mattos D, Oliveira MB, Pereira MJ, Moreno S, Freitas R, Gomes ML, Bernardo-Filho M. Effect of chayotte (*Sechium edule*) extract on the biodistribution of technetium-99m and on the morphometry of red blood cells. J Label Comp Radiopharm. 2001; 44:648-50.
10. Capriles PVSZ, Dias A M, Costa TEMM, Oliveira MBN, Faria MVC, Moura EG, Abreu BAL, Bernardo-Filho M. Effect of eggplant (*Solanum melongena*) extract on the *in vitro* labeling of blood elements with technetium-99m and on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats. Cell Mol Biol. 2002;48:771-6.

11. Chacon DA, Araújo-Filho I, Villarim-Neto A, Rêgo AC, Azevedo IM, Bernardo-Filho M, Brandão-Neto J, Medeiros AC. Biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ) after massive small bowel resection in rats. *Acta Cir Bras.* 2007;22:430-5.
12. Braga ACS, Oliveira MBN, Feliciano GD, Reiniger IW, Oliveria JF, Silva CR, Bernardo-Filho M. The effect of drugs on the labeling of blood elements with Technetium-99m. *Curr Pharm Design.* 2000;6:1179-91.
13. Sampson, C.B. Complications and difficulties in radiolabelling blood cells: a review. *Nucl Med Commun.* 1996;17:648-58.
14. Nakae H, Shimazu T, Miyauchi H, Morozumi J, Ohta S, Yamaguchi Y, Kishikawa M, Ueyama M, Kitano M, Ikeuchi H, Yukioka T, Sugimoto H. Does splenic preservation treatment (embolization, splenorrhaphy, and partial splenectomy) improve immunologic function and long-term prognosis after splenic injury? *J Trauma.* 2009;67:557-63.
15. Spierer Z, Weisman Y, Zakuth V, Fridkin M, Bogair N. Decreased serum tuftsin concentrations in sickle cell disease. *Arch Dis Child.* 1980;55:566-7.
16. Petroianu A, Resende V, Da Silva RG. Late follow-up of patients submitted to subtotal splenectomy. *Int J Surg.* 2006;4:172-8.
17. Müller-Suur R, Magnusson G, Bois-Svensson I, Jansson B. Estimation of technetium 99m mercaptoacetyltriglycine plasma clearance by use of one single plasma sample. *Eur J Nucl Med.* 1991;18:28-31.
18. Higashihara E, Tokuda H, Kishi H, Nijima T, Okada Y, Nishikawa J, Iio M. Technetium-99m dimercaptosuccinic acid uptake in long-term catheterized kidney. Comparison with renal function. *Urology.* 1988;31:327-31.
19. Bushong, SC. *Radiologic Science for Technologists: Physics, Biology and Protection.* 7<sup>TH</sup>Ed. Missouri, USA. Mosby, 2001.
20. Harrison J. Biokinetic and dosimetric modelling in the estimation of radiation risks from internal emitters. *J Radiol Prot.* 2009;29:A81-A105.
21. Aprile C. Radiolabelled peptides and low molecular weight proteins in metabolic diseases. *Q J Nucl Med.* 2003;47:321-36.

22. Wessels BW, Syh JH, Meredith RF. Overview of dosimetry for Systemic Targeted Radionuclide Therapy (STaRT). *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006;66(2 Suppl):S39-45.
23. Banerjee S, Raghavan M, Pillai A, Ramamoorthy N. Evolution of Tc-99m in diagnostic radiopharmaceuticals. *Semin Nucl Med*. 2001;31: 266-77.
24. Jaksic E, Artiko V, Beatovic S, Djokic D, Jankovic D, Saranovic DS, Han R, Obradovic V. Clinical investigations of <sup>99m</sup>Tc-p-aminohippuric acid as a new renal agent. *Nucl Med Commun*. 2009;30:76-81.
25. Peters AM. Quantitative regional blood flow measurements in exercising leg skeletal muscle based on <sup>99m</sup>Tc-pertechnetate clearance. *Nucl Med Commun*. 2009;30:651-2.
26. Eckelman WC. Unparalleled contribution of technetium-99m to medicine over 5 decades. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2009;2:364-8.
27. Eckelman WC, Kilbourn MR, Mathis CA. Specific to nonspecific binding in radiopharmaceutical studies: it's not so simple as it seems! *Nucl Med Biol*. 2009;36:235-7.
28. Arano, Y. Recent advances in <sup>99m</sup>Tc radiopharmaceuticals. *Ann Nucl Med*. 2002;16:79-93.
29. Dewanjee , M.K. The chemistry of <sup>99m</sup>Tc labeled radiopharmaceuticals. *Semin Nucl Med*. 1990;1:5-27.
30. Srivastava, S.C. Is there life after technetium: what is the potential for developing new broadbased radionuclides? *Semin Nucl Med*. 1996; 2:119-31.
31. Ballinger, JR. The influence of carrier on <sup>99m</sup>Tc radiopharmaceuticals. *Quart J Nucl Med*. 2002;46:224-32.
32. Rao SA, Knobel J, Collier BD, Isitman A T. Effect of Sn (II) ion concentration and heparin on Technetium-99m red blood cell labeling. *J Nucl Med*. 1986;27:1202-6.
33. Dantas FJ S, Moraes MO, Mattos JC, Bezerra RJ, Carvalho EF, Bernardo-Filho M, Caldeira-de-Araújo, A. Stannous chloride mediates single strand breaks in plasmid DNA through reactive oxygen species formation. *Toxicol Letters*. 1999;110:129-36.

34. Mattos JCP, Dantas FJS, Bezerra RJAC, Bernardo-Filho M, Cabral-Neto JB, Lage C, Leitão AC, Caldeira-de-Araujo A. Damage induced by stannous chloride in plasmid DNA. *Toxicol Letters*. 2000;116:159-63.
35. Reiniger IW, Silva CR, Felzenszwalb I, Mattos JCP, Oliveira JF, Dantas FJS, Bezerra AAC, Bernardo-Filho M. Boldine action against the stannous chloride effect. *J Ethnopharmacol*. 1999; 68: 345-8.
36. Lee BF, Yeh JL, Chiu NT, Liu GC, Yu HS, Wang MH, Shen LH. Evaluation of Tc-99m (V) DMSA binding to human plasma proteins. *Kaohsiung J Med Sci*. 2008;24:1-9.
37. Wu Z, Liu M, Feng J, Weilin, Wu H, Wang J, Li Y. Technetium-99m(V)-dimercaptosuccinic acid osteotropism in Staphylococcus aureus-induced arthritis regulated by glucose-mediated acidification. *Nucl Med Commun*. 2009;30:356-61.
38. Stokland E, Jodal U, Sixt R. Uncomplicated duplex kidney and DMSA scintigraphy in children with urinary tract infection. *Pediatr Radiol*. 2007; 37:826–8.
39. Piepsz A, Blafox MD, Gordon I. Consensus on renal cortical scintigraphy in children with urinary tract infection. *Semin Nucl Med*. 1999;29:160–74.
40. Davies ER, Roberts M, Roylance J. The renal scintigram in pyelonephritis. *Clin Radiol*. 1972; 23:370–6.
41. Majd M, Rushton HG. Renal cortical scintigraphy in the diagnosis of acute pyelonephritis. *Semin Nucl Med*. 1992;22:98–111.
42. Jakobsson B, Nolstedt L, Svensson L. Tc-99m DMSA scan in the diagnosis of acute pyelonephritis in children: relation to clinical and radiological findings. *Pediatr Nephrol*. 1992;6:328–34.
43. Sty JR, Wells RG, Starshack R J. Imaging in acute renal infection in children. *Am J Roentgenol*. 1987;148:471-7.
44. Mouraditis B, Ash JM, Gilday DL. Comparison of planar and SPECT 99mTc-DMSA scintigraphy for the detection of renal cortical defects in children. *Nucl Med Commun*. 1993;14:82-6.
45. Araújo-Filho I, Rêgo ACM, Brandão-Neto J, Villarim-Neto A, Egito EST, Azevedo IM, Medeiros AC. Biodistribution of the radiopharmaceutical

- sodium pertechnetate after biliopancreatic bypass with a duodenal switch. *Braz Arch Biol Technol.* 2007;50:189-97.
46. Ito K, Ozasa H, Yoneya R, Horikawa S. Splenectomy ameliorates hepatic ischemia and reperfusion injury mediated by heme oxygenase-1 induction in the rat. *Liver.* 2002;22:467-73.
47. Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nat Rev Immunol.* 2005;5:606-16.
48. Ishibashi H, Higuchi N, Shimamura R, Hirata Y, Kudo J, Niho Y. Sonographic assessment and grading of spleen size. *J Clin Ultrasound.* 1991;19:21-5.
49. Prassopoulos P, Cavouras D. CT assessment of normal splenic size in children. *Acta Radiol.* 1994; 35:152-4.
50. Christo MC. Baço: cirurgia e história. *Rev Med Minas Gerais.* 2001; 11:251-4.
51. Marques RG, Petroianu A, Oliveira MBN, Bernardo Filho M. Importância da preservação de tecido esplênico para a fagocitose bacteriana. *Acta Cir Bras.* 2002; 17:388-93.
52. Resende V, Petroianu A. Estudo funcional tardio do auto-implante esplênico após trauma complexo do baço humano. *Rev Col Bras Cir.* 2001;28:167-72.
53. Uranues S, Alimoglu O. Laparoscopic surgery of the spleen. *Surg Clin North Am.* 2005;85:75-90.
54. Kathouda N, Hurwitz MB, Rivera RT, Muidymatio C, Waldrep DJ, Gugheneium J. Splenectomy: outcome and efficacy in 103 consecutive patients. *Ann Surg.* 1998;228:568-78.
55. Brunt LM, Langer JC, Quasebarth MA. Comparative analysis of laparoscopic versus open splenectomy. *Am J Surg.* 1996;172:596-9.
56. Upadhyaya P. Conservative management of splenic trauma. *Pediatr Surg Int.* 2003;19:617-627.
57. Romano F, Caprotti R, Conti M, Piacentini MG, Uggeri F, Motta V, Pogliani EM, Uggeri F. Thrombosis of the splenoportal axis after splenectomy. *Langenbecks Arch Surg.* 2006;391:483-8.

58. Stamou KM, Toutouzas KG, Kekis PB. Prospective study of the incidence and risk factors of postsplenectomy thrombosis of the portal, mesenteric, and splenic veins. *Arch Surg.* 2006;141:663-9.
59. Bishart N, Omari H, Lavi I, Raz R. Risk of infection and death among post-splenectomy patients. *J Infect.* 2001;43:182-4.



**ABSTRACT**

Splenectomy is indicated in hematologic diseases, hypersplenism, serious injuries and has been the cause of important metabolic and immunological changes. This study aimed to evaluate if the splenectomy alters biodistribution of  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA and renal function in Wistar rats. Twelve rats were used in two groups: splenectomy ( $n = 6$ ) and control ( $n = 6$ ). After 15 days postsplenectomy, intravenous administration of 0.1 ml of  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (0.66MBq) was performed. Thirty minutes later, biopsies from kidney, heart, lung, thyroid, stomach, bladder, femur and blood were harvested. Samples were washed with saline 0.9%, weighed and the percentage of radioactivity/g of tissue (%ATI/g) was counted with Wizard Gamma Counter Perkin-Elmer. Serum urea and creatinine, hematocrit, leukocytes and platelets were measured. Statistics was done by t test, and  $p < 0.05$  was considered significant. The results showed a significant reduction in %ATI/g in kidney and blood ( $p < 0.05$ ) of splenectomized animals, comparing with controls. A significant increase ( $p < 0.05$ ) of urea ( $88.8 \pm 18.6$  mg/dL) and creatinine ( $0.56 \pm 0.08$ ) was observed, compared to the controls ( $51.5 \pm 1.6$ ,  $0.37 \pm 0.02$  mg/dL, respectively), as well as leukocytosis, increase in platelets, and hematocrit reduction. In conclusion, splenectomy altered the renal function and the uptake of  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA by the kidney and blood of rats.

**Keywords:** Kidney. Splenectomy. Radiopharmaceutical. Biodistribution.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)