BR9024361

ISSN 0101-3084

CNEN/SP

ipen Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

PREPARAÇÃO DE DEXTRAN-500-^{99m}Tc PARA LINFOCINTILOGRAFIA

Elena Setuko HAMADA, Emiko MURAMOTO, Nilda Petrona SOSA de PEREIRA, Rosana Herrerias BRITO, Constância Pagano Gonçalves da SILVA

IPEN-PUB--295

PUBLICAÇÃO IPEN 295 MARÇO/1990

SÃO PAULO

PUBLICAÇÃO IPEN 295 MARÇO/1990

PREPARAÇÃO DE DEXTRAN-500-^{99m}Tc PARA LINFOCINTILOGRAFIA

Elena Setuko HAMADA, Emiko MURAMOTO, Nilda Petrona SOSA de PEREIRA, Rosana Herrerias BRITO, Constância Pagano Gonçalves da SILVA

DEPARTAMENTO DE PROCESSAMENTO

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

Série PUBLICAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

B13.30

DEXTRAN
LABELLING
TECHNETIUM 99
LYMPHATIC SYSTEM
SCINTISCANNING

IPEN - Doc - 3353

Aprovado para publicação em 29/08/89.

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

PREPARAÇÃO DE DEXTRAN-500-^{99m}Tc PARA LINFOCINTILOGRAFIA*

Elena Setuko HAMADA, Emiko MURAMOTO, Nilda Petrona SOSA de PEREIRA, Rosana Herrerias BRITO, Constância Pagano Gonçalves da SILVA.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLER-SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Caixa Postal 11049 - Pinheiros
05499 - São Paulo - BRASIL

RESUMO

Este trabalho apresenta a preparação de Dextran-500, sob forma de Conjunto de Reativo Liofilizado, para ser marcado com Tecnécio-99m, utilizado em Medicina Nuclear para estudos do sistema linfático. Cada frasco contendo 100 mg de Dextran-500 e 1,5 mg de Cloreto Estanoso foi submetido a análises cromatográficas em ITLC para determinação da pureza radioquímica e estabilidade do produto. Realizaram-se estudos da biodistribuição em ratos e avaliação clínica em humanos. Os resultados obtidos permitiram incorporar a formulação de Dextran-500, como agente rotineiro, ideal para linfocintilografia radioisotópica

---

(*) Trabalho a ser apresentado no "XI Congreso de la Asociación Latinoamericana de Sociedad de Biologia y Medicina Nuclear" - ALASBIMN, Santiago - Chile, de 08 a 11 de Outubro de 1989.

PRI ARATION OF ^{99m}Tc - DEXTRAN-500 FOR USE IN LYNPHOSCINTIGRAPHY*

Elena Setuko HAMADA, Emiko MURAMOTO, Nilda Petrona SOSA de PEREIRA, Rosana Herrerias BRITO, Constância Pagano Gonçalves da SILVA.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
P.O. Box 11049 - Pinheiros
05499 - São Paulo - BRAZIL

ABSTRACT

This paper reported the preparation of lyophilized kit Dextran-500 for labelling with ^{99m}Tc used in Nuclear Medicine as a lymphoscintigraphic agent. Each vial contains 100 mg Dextran-500 and 1,5 mg stannous chloride. The radiopharmaceutical was checked by ITLC, and the radio - chemical purity and stability were determined. The studies of biological distribution were made in Wistar rats and the clinical evaluation in men was realized. Our results permited to incorporate Dextran-500 formulation as an ideal agent for routine use in lymphoscintigraphic.

(*) Paper to be presented at XI Congreso de La Asociación Latinoamericana de Sociedad de Biologia Y Medicina Nuclear - ALASBIMN, held in Santiago - Chile, Oct. 08 - 11, 1989.

INTRODUÇÃO

Um grande número de radiocoloídes marcados com ^{99m}Tc são empregados em Medicina Nuclear para o diagnóstico de problemas do sistema linfático, por meio da linfocintilografia. Dentre os radiofármacos podemos citar os colóides de enxofre, estanho coloidal, fitato, sulfeto de antimonio e outros[5].

Em 1981, Henze e col.[6,7] introduziram um novo radiofármaco, o Dextran-^{99m}Tc, utilizando-o, primeiramente, para estudos angiográficos e logo em seguida para linfocintilografia.

O Dextran é um polímero da glicose anidra produzido por numerosas cepas de Leuconostoc e bacterias estritamente relacionadas, em soluções que contém sacarose. É solúvel em água dando soluções viscosas.

O Dextran é utilizado clínicamente como substituto do plasma, após a sua administração intravenosa permanece no espaço vascular ; não é tóxico e é facilmente biodegradável.

Existem distintos tipos de Dextran com pesos moleculares que oscilam entre 10.000 a 500.000.

Alguns autores[2,4,6] demonstraram que o Dextran-500 com peso molecular de 500.000 é um agente ideal para estudo do sistema linfático. Pelas suas propriedades químicas e farmacocinéticas não atravessa as membranas capilares e sòmente se mobiliza do sítio da injeção por drenagem linfática.

Química e biològicamente o Dextran-^{99m}Tc pode ser fàcilmente marcado com ^{99m}Tc, apresentando elevado rendimento de marcação e estabilidade "in vitro e in vivo".[2,4,6,8]

Segundo de Kievet[3], duas subunidades da dextrose da cadeia de Dextran formaria um quelato bidentado com o Tecnécio reduzido , como se observa na seguinte equação:

$$TcO_4^- + 2\left[C_6H_{10}O_5\right] + Sn^{2+} + H_2O \longrightarrow \left[TcO(C_6H_8O_5)_2^-\right] + 4H^+ + \left[SnO_2(OH)_2\right]^{2-}$$

Em 1983, Bennett e Lago[1], utilizando Dextran-^{99m}Tc obtiveram uma boa avaliação clínica do sistema linfático em pacientes com carcinoma de cadeia mamária interna e axilar e melanomas malígnos da cabeça e tronco.

Este radiofármaco pode ser também usado no diagnóstico do câncer genito-urinário[4].

O propósito deste trabalho consiste na formulação do conjunto de reativo liofilizado de Dextran-500 com características de qualidades adequadas para ser oferecido à classe médica nos estudos do sistema linfático.

2. MATERIAL

2.1. ^{99m}Tc - em forma de pertecnetato de sódio obtido em solução salina, eluído de um gerador ^{99}Mo - ^{99m}Tc (IPEN-TEC).

2.2 Dextran-500 (PM = 531.000) de procedência Sigma.

2.3 Cloreto estanoso dihidratado PA.
$SnCl_2.2H_2O$ (PM = 225,6) da Merck com título de pureza maior que 95%, titulado segundo método descrito na Farmacopéia Brasileira 2ª ed.

3. MÉTODO

3.1 PREPARAÇÃO DE CONJUNTO DE REATIVOS LIOFILIZADOS DE DEXTRAN-500.

Seguiu-se a técnica de Henze e col.[6,7] com algumas modificações.

Dissolveu-se, à temperatura ambiente, 3 g de Dextran - 500 em 28 ml de solução fisiológica (NaCl 0,9%) prèviamente nitrogenada. Adicionou-se uma solução de cloreto estanoso contendo 45 mg/2,0 ml de HCl 0,1 N e ajustou-se o pH = 4,0. A mistura assim preparada foi nitrogenada por mais de 30 minutos e filtrada em filtro Millipore 0,22 μ e fracionada em alíquotas de 1,0 ml em frascos tipo penicilina. A seguir, as amostras foram liofilizadas durante 24 horas.

Cada frasco do conjunto de reativo liofilizado constituiu-se de 100 mg de Dextran-500 e 1,5 mg de $SnCl_2.2H_2O$.

3.2 CONTROLE RADIOQUÍMICO

O produto foi submetido a controle radioquímico para avaliação da impureza radioativa constituida por tecnécio não ligado à molécula. O suporte utilizado foi papel ITLC em fitas de 1x8 cm e como solvente metanol 85%.

Avaliaram-se os rendimentos de marcação em função do tempo de reação nos intervalos de 15, 30, 60, 120, 180 e 360 minutos, variando-se as atividades e volumes da solução de $^{99m}TcO_4$ adicionado. Estudou-se a estabilidade do produto liofilizado durante 6 meses após a preparação.

3.3 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle da distribuição biológica de Dextran-500-^{99m}Tc nos diferentes órgãos foi avaliado em um grupo de ratos machos da raça Wistar com peso médio de 250 mg, mantidos no biotério do IPEN-CNEN/SP.

Cada animal foi prèviamente anestesiado com uma solução de uretana (100 mg/100 g) de peso corporal) por via intraperitonal e sacrificado nos intervalos de 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos após administração endovenosa de 2960-3700 KBq (80 - 100 µCi) do produto marcado. Foram coletadas amostras sanguíneas por secção da veia jugular, e retirados os seguintes órgãos: baço, rins, fígado, coluna, pulmão, coração, intestino e estômago. Estes órgãos foram lavados, pesados e a radioatividade determinada num contador gama tipo poço "Nuclear Chicago".

3.4 CINTILOGRAFIA

A aplicação clínica de Dextran-500 foi avaliada em pacientes que receberam 0,1-3,0 ml do produto, com uma atividade entre 111 - 185 MBq (3 - 5 mCi) - ^{99m}Tc, injetados no espaço interdigital, subcutânea superficial.

Efetuaram-se estudos de linfocintilografias que nos revelaram possíveis patologia do sistema linfático.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CONTROLE RADIOQUÍMICO

Na Tabela I (a - b - c) estão relacionados os resultados do controle radioquímico do Dextran-500-^{99m}Tc nos diferentes tempos após a marcação com $^{99m}TcO_4^-$ variando-se as atividades e os volumes de $^{99m}TcO_4^-$ adicionado, como também a estabilidade do produto após a preparação.

As análises cromatográficas revelaram uma pureza radioquímica de 99% durante 6 horas, demonstrando ser um composto de fácil marcação com porcentagem alta de rendimento, não havendo evidência apreciável de tecnécio não complexado na molécula.

Pela avaliação dos resultados obtidos nos ensaios de estabilidade pode-se concluir que o produto apresentou ótimas características de qualidade durante 6 meses de estudos.

TABELA I

a. RENDIMENTO DE MARCAÇÃO (%) DO DEXTRAN-500 COM DIFERENTES VOLUMES DE SOLUÇÃO DE $^{99m}TcO_4^-$ (ml) *

Volume (ml) \ Tempo (min)	15	30	60	120	180	360
1,0	99,93	99,90	99,85	99,58	99,08	99,60
3,0	99,86	99,89	99,89	99,99	99,73	99,61
5,0	99,68	99,86	99,83	99,90	99,63	99,52

* Média de 6 amostras

b. RENDIMENTO DE MARCAÇÃO (%) DO DEXTRAN-500 EM FUNÇÃO DA ATIVIDADE DE $^{99m}TcO_4$ ADICIONADO.*

Atividade MBq (mCi) \ Tempo (min)	15	30	60	120	180	360
37 (1,0)	99,84	99,82	99,86	99,58	98,99	99,11
74 (2,0)	99,60	99,12	99,31	99,04	98,63	98,82
185 (5,0)	99,90	99,90	99,97	99,84	99,98	99,43
370 (10,0)	99,68	99,86	99,83	99,90	99,63	99,52

* Média de 6 amostras

c. CONTROLE DA ESTABILIDADE DO DEXTRAN-500*

Tempo (min) / Tempo (meses)	15	30	60	120	180	360
1	99,88	99,87	99,87	99,81	99,82	99,60
2	99,85	99,84	99,78	99,80	99,61	99,84
3	99,71	99,30	99,75	99,60	99,81	99,43
4	99,79	99,85	99,94	99,87	99,91	99,86
5	99,95	99,37	99,91	99,89	99,20	98,90
6	97,70	98,74	99,47	96,58	96,82	97,39

* Média de 12 lotes

4.2 ENSAIO BIOLÓGICO

O Dextran-500-^{99m}Tc distribui-se rapidamente no organismo 1 hora após a administração da dose.

No fígado verificou-se um acúmulo significante da radioatividade atingindo a seu pico máximo aos 90 minutos (22,32%/D) e manteve-se estável até 240 minutos (22,45%/D) (Tabela II). Os resultados podem ser visualizados na Figura 1 e 4.

O acúmulo no fígado poderia ser devido ao processo de oxidação do Dextran para frações de menores peso molecular para serem então excretados pelas vias renais[5]. Como pode ser visto, a quantidade eliminada pelo intestino não foi considerável em 240 minutos (2,59%/D), enquanto que no rim a atividade encontrada foi de 12,31%/D.

No estômago, a captação foi baixa, o que indica a estabilidade do radiofármaco "in vivo", (Tabela II).

No estudo da correlação dos órgãos com a atividade sanguínea verificou-se que a captação hepática e renal foi crescente cujos resultados em 240 minutos foram de 44,00 e 24,62 res-

pectivamente, enquanto que a captação obtida pela coluna cervical (considerando as atividades encontradas nas veias e na medula)foi aumentando gradativamente, alcançando nesta relação o nível de 5,13%/D. (Tabela III Figura 2).

O baço e os pulmões apresentaram baixos níveis de captação, entretanto analisando os resultados em relação aos dados do sangue, mostraram pequeno aumento desses valores.

A curva de decaimento sanguíneo do Dextran-^{99m}Tc, após injeção endovenosa se faz de modo monoexponencial como se observa na figura 3. Henze e col[7] após administrar subcutâneamente Dextran- . em animais, verificaram que o radiofármaco decai monoexponencialmente.

Ercan e col[5] estudaram o tempo da remoção da radioatividade do sítio de injeção (intradérmica) em coelhos, e verificaram que apenas 30% da substância marcada havia migrado do local 2 horas após a dose. No nosso trabalho, quando foi administrado por via subcutânea ou interdigitalmente em ratos observamos que não houve deslocamento do Dextran-^{99m}Tc do sitio de injeção, significando que não houve penetração do radiofármaco através das membranas capilares.

4.3 CINTILOGRAFIA

O Dextran-500 quando administrado no espaço intersticial do homem fornece uma linfocintilografia de alta qualidade.

Na Figura 4 temos a imagem de uma linfocintilografia realizada em um indivíduo normal, onde se observa uma distribuição homogenea do radiofármaco em todo sistema linfático.

Na Figura 5 observa-se uma linfocintilografia de um paciente com vaso linfático da perna direita dilatada e tortuosa, assim como também no joelho e na coxa, revelando um caso de linfodermopatia.

O uso deste composto em seres humanos demonstrou ser um agente ideal para visualizar o sistema linfático, diferenciando nitidamente casos normais dos patológicos.

TABELA II - DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DO DEXTRAN-500-^{99m}Tc ADMINISTRADO POR VIA ENDOVENOSA, EM RATOS.

Tempo (min) / Órgão	5	15	30	45	60	90	120	180	240
SANGUE	3,07	2,52	2,08	1,66	0,67	0,67	0,63	0,56	0,51
BAÇO	0,61	2,69	3,00	5,54	2,20	1,95	1,82	1,66	1,10
RIM	1,84	1,52	1,91	3,46	4,39	4,73	7,40	9,31	12,31
FÍGADO	8,62	11,74	13,94	15,65	16,97	22,32	-	22,62	22,45
COLUNA	3,51	3,35	2,45	2,17	1,92	2,21	2,23	2,63	3,43
PULMÃO	4,58	3,34	3,45	2,52	1,96	2,07	1,48	1,34	1,57
CORAÇÃO	0,63	0,49	0,45	0,33	0,17	0,23	0,18	0,21	0,22
INTESTINO	1,68	1,61	1,14	0,83	1,40	1,98	1,49	1,88	2,59
ESTÔMAGO	0,24	0,21	0,13	0,14	0,15	0,18	0,18	0,21	0,29

n = 6

TABELA III - ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE ATIVIDADES (%) DOS ÓRGÃOS/ATIVIDADE (%/D) SANGUÍNEA EM RATOS.

Tempo (min) / Órgão	5	15	30	45	60	90	120	180	240
BAÇO	0,20	1,07	1,44	3,34	3,28	2,91	2,89	2,96	2,16
RIM	0,60	0,60	0,91	2,08	6,55	7,06	11,75	16,62	24,62
PULMÃO	1,49	1,33	1,66	1,52	2,92	3,09	2,35	2,39	3,08
CORAÇÃO	0,20	0,19	0,02	0,20	0,40	0,34	0,30	0,37	0,43
ESTÔMAGO	0,07	0,08	0,06	0,08	0,22	0,27	0,28	0,37	0,57
COLUNA	1,14	1,33	1,18	1,31	2,87	3,30	3,54	4,70	6,72
FÍGADO	2,80	4,65	6,70	9,42	25,32	33,31	-	43,92	44,00
INTESTINO	0,55	0,64	0,55	0,50	2,09	2,95	2,36	3,36	5,08

n = 6

FIGURA 1 - DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DO DEXTRAN-500-^{99m}Tc INJETADO POR VIA ENDOVENOSA EM RATOS.

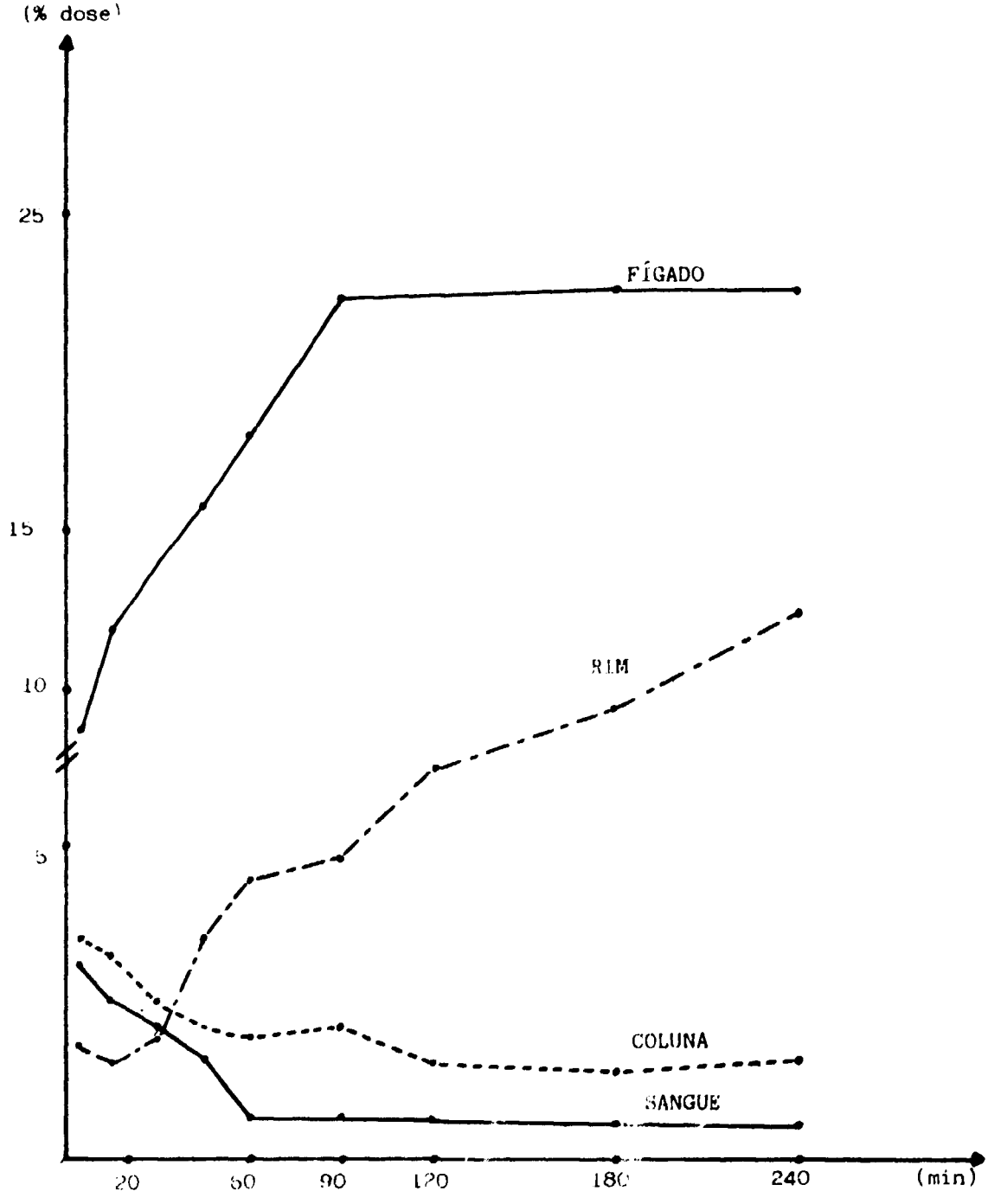


FIGURA 2 - ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE ATIVIDADES (%D) DOS ÓRGÃOS/ ATIVIDADE (%/D) SANGUÍNEA EM RATOS.

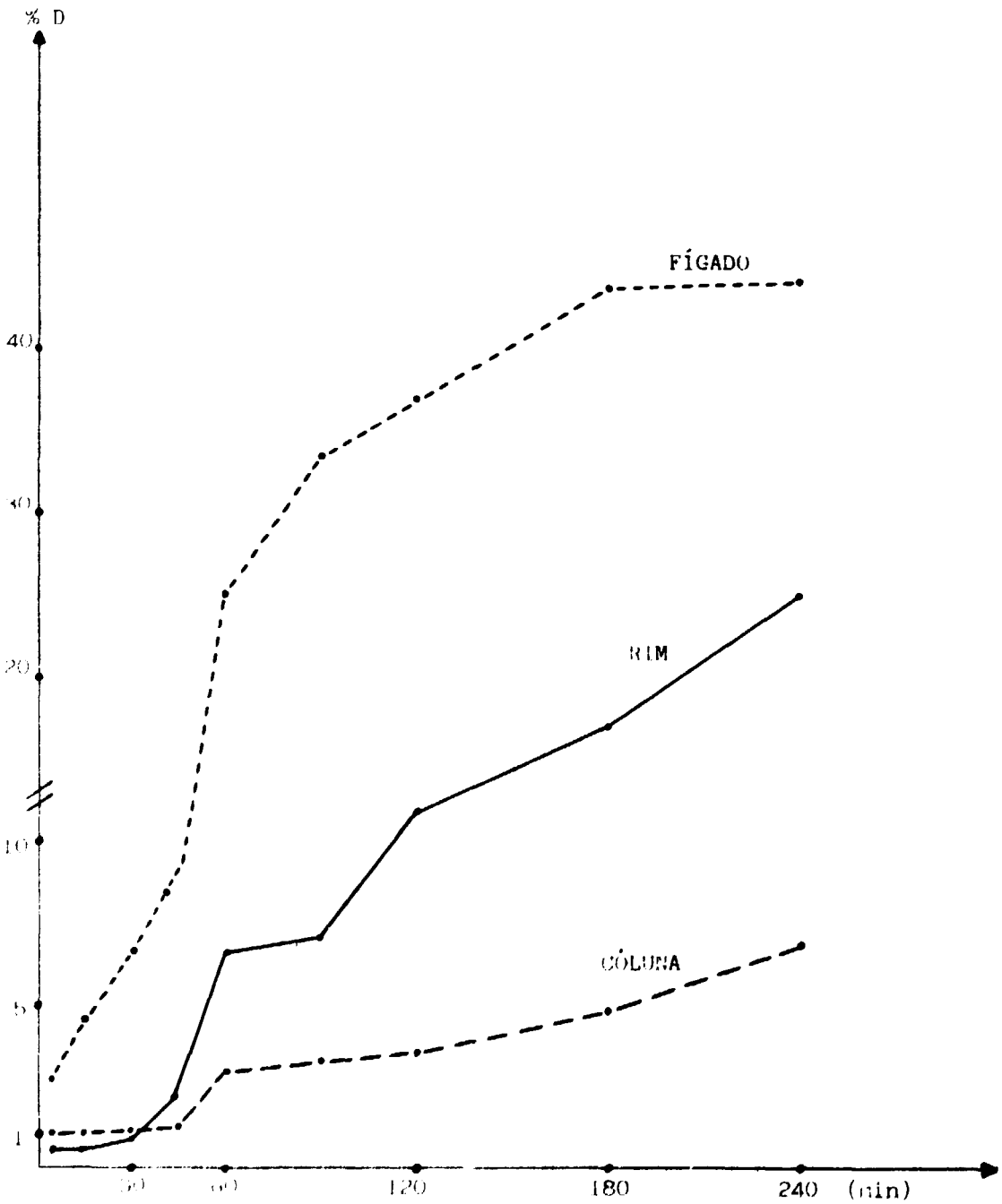
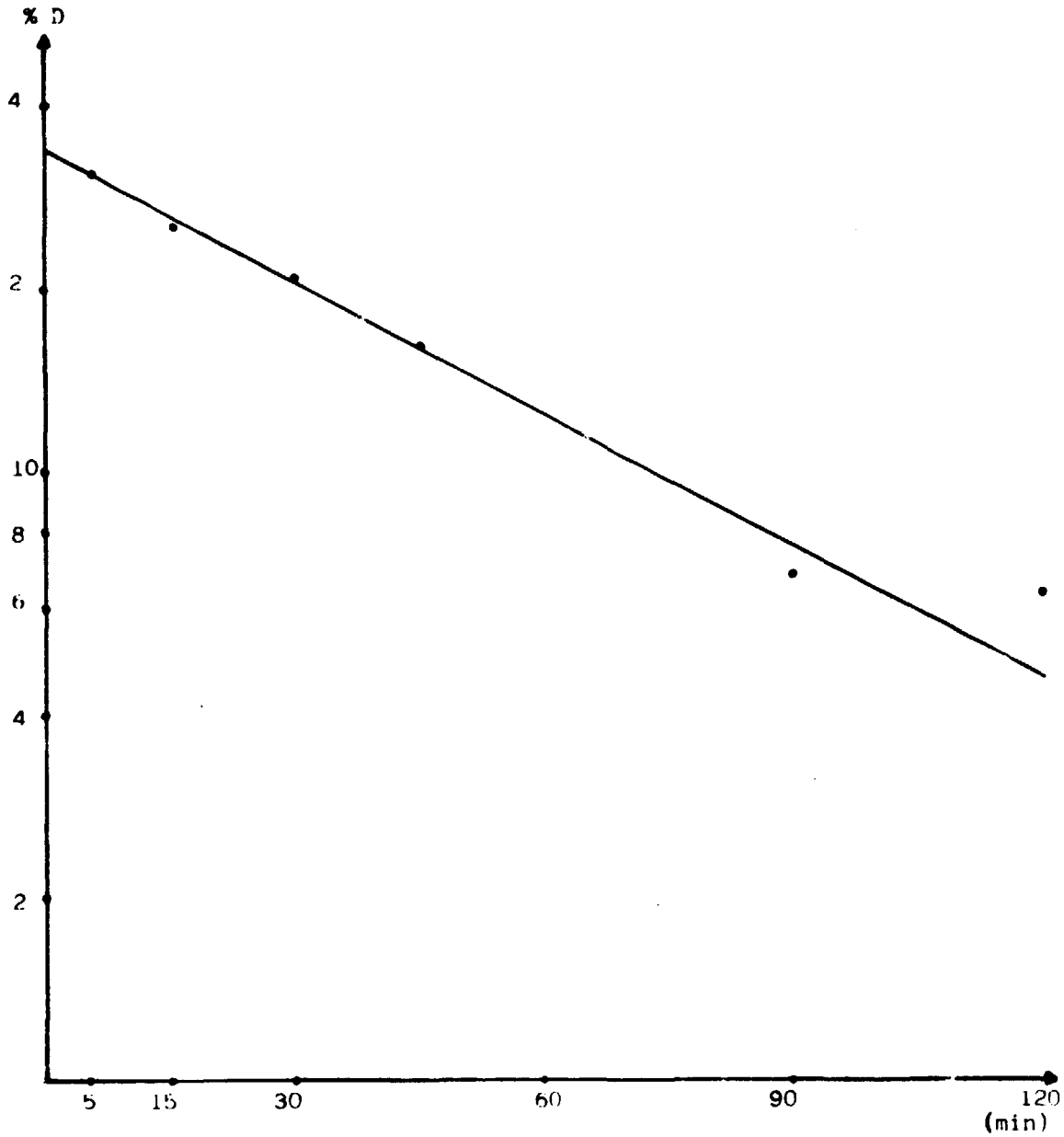


FIGURA 3 - DECAIMENTO SANGUÍNEO DE DEXTRAN-500-^{99m}Tc APÓS INJEÇÃO ENDOVENOSA EM RATOS



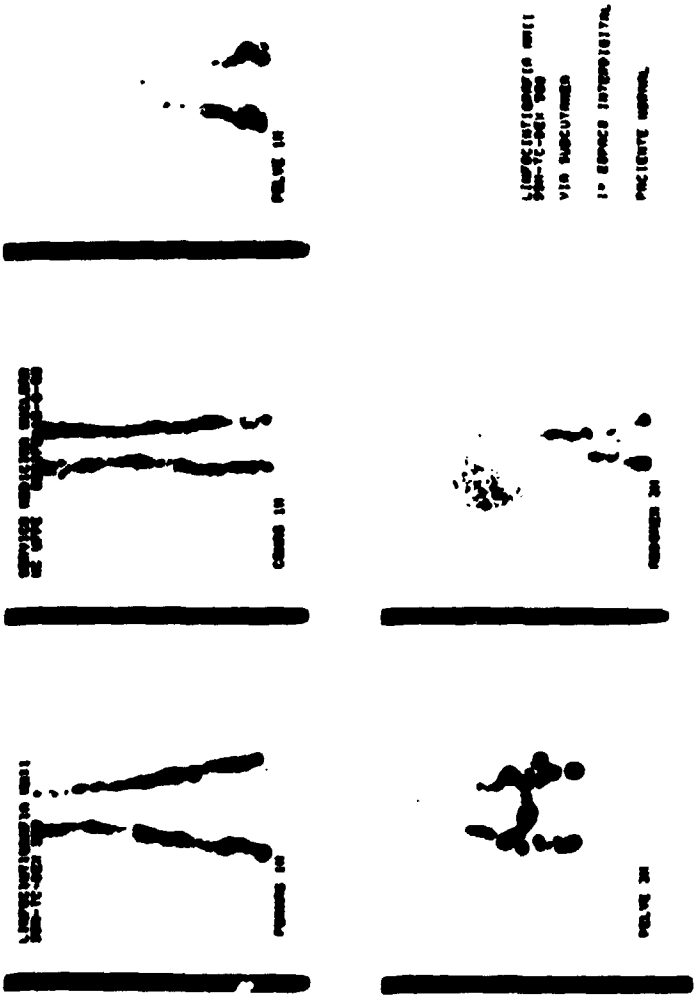


FIGURA 4 - CINTILOGRAFIA EM INDIVÍDUO NORMAL.

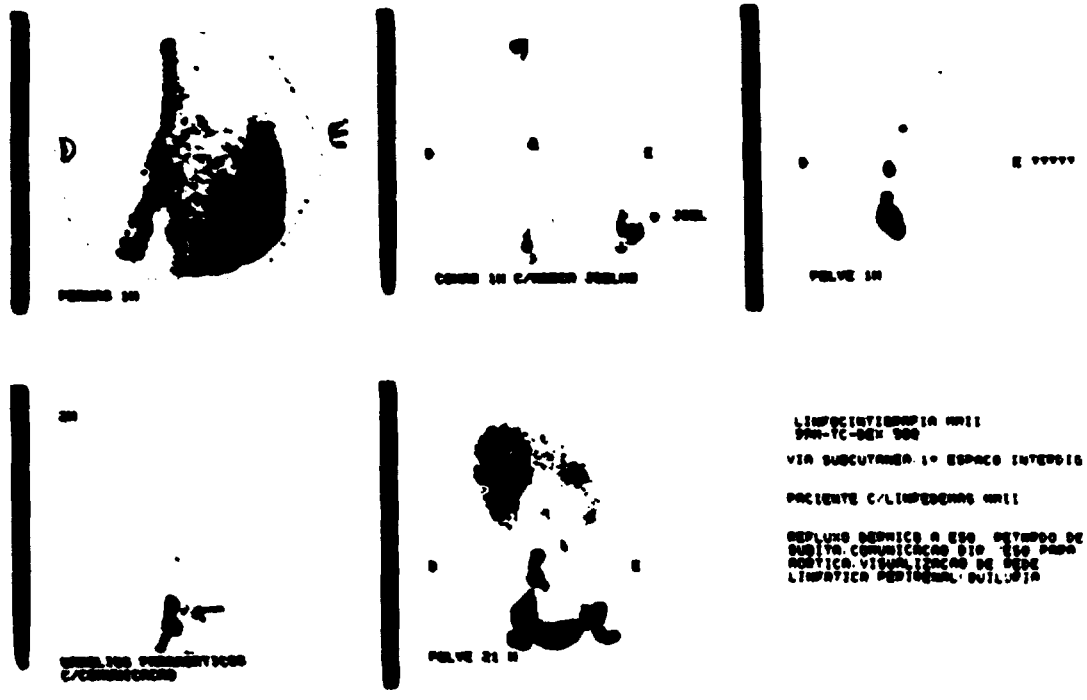


FIGURA 5 - CINTILOGRAFIA EM PACIENTE COM LINFODERMOPATIA

5. CONCLUSÃO

Por meio deste estudo pode-se concluir que o Dextran-500 , preparado na forma liofilizada, e marcado com ^{99m}Tc, apresenta um elevado rendimento de marcação e uma estabilidade de até 6 meses após sua fabricação, tanto "in vitro" como "in vivo".

O produto quando administrado em seres humanos fornece excelentes imagens linfocintilográficas.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BENNETT, L.R. & LAGO, G. Cutaneous lymphoscintigraphy in malignant melanoma. Semin.Nucl.Med., 13 (1): 61-69, 1983.

2. CERIANI, J.; CANEDA, G.; CAÑELLAS, G.O.; ROZADOS, I.; MITTA, A.E.A. El dextrano X 500 ^{99m}Tc en linfocentellografia abdominal. Acta Bioquim. Clin. Latinoam. 18(2): 345-51, 1984.

3. DE KIEVIET, W. Technetium radiopharmaceuticals: Chemical Characterization and tissue distribution of Tc- Glucoheptonate using Tc-99m and carrier Tc-99. J.Nucl.Med., 22: 703-709. 1981.

4. EL TAMIR, E.A. Linfografia Radioisotópica. In: Biologia y Medicina Nuclear: Anales de IX Congreso de la Asociación Latinoamericana de Sociedades de Biologia e Medicina Nuclear (ALASBIMN), realizado en Montevideo, 9-13 deciembre, 1984, Montevideo, 1984. p: 169-76.

5. ERCAN, M.T.; SCHNEIDEREIT, M.; SENEKOWITSCH, R.; KRIFGEL, H. Evaluation of ^{99m}Tc - dextran as a lymphoscintigraphic agent in rabbits. Eur. J.Nucl.Med. 11: 80-84, 1985.

6. HENZE, E.; ROBISON, G.D.; KNHL, K.F.; SCHELBERT, H. Tc-99m Dextran: A New Blood-Pool-Labeling Agent for Radionuclide Angiocardiography. J.Nucl.Med.; 23: 348-353, 1982.

7. HENZE, E.; SCHELBERT, H.R.; COLLINS, J.D.; NAJAFI, A.; BARRIO, J.R.; BENNETT, L.R. Lymphoscintigraphy with Tc-99m-Labeled Dextran. J. Nucl.Med.; 23: 923-929, 1982.

8. WINGARD, K.& STRAND, S.E. Quality Control of Tc-99m-Dextran in vitro and in vivo. J.Labelled Compd. Radiopharm.; 23 (10-12): 1163-5, 1986.