



SBBN

Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares

ANAIIS DA SBBN

ANNALS OF THE BRAZILIAN SOCIETY
OF NUCLEAR BIOSCIENCES

VOLUME 03
ANO 2016

ISSN 2525-4634

XI CONGRESSO DA SBBN

*"RADIOBIOLOGIA E RADIOISÓTOPOS: TRANSVERSALIDADE
E INTEGRAÇÃO PARA DISSEMINAR APLICAÇÕES EM SAÚDE E
MEIO AMBIENTE"*

29 de Agosto a 1º de Setembro de 2016

**Centro de Convenções do Bourbon Cataratas Hotel
Foz do Iguaçu
Paraná, Brasil**

Anais da Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares
ISSN 2525-4634 para a publicação online

ANAIS DA SBBN é uma publicação anual da Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares (SBBN) para divulgação de resumos e artigos completos apresentados em congressos e eventos promovidos pela SBBN.

Expediente:

Coordenação: Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares (SBBN)

Presidente: Silvia Maria Velasques de Oliveira

Diretor de Ensino, Eventos e Divulgação Científica: Priscilla Brunelli Pujatti

Correspondências: Caixa Postal 34131 CEP 22460-970

Contato: publicacoes@sbbn.org.br

Instruções aos autores: <http://sbbn.org.br/anais-sbbn/>

PRESIDENTE DO XI CONGRESSO SBBN
Silvia Maria Velasques de Oliveira

COMITÊ ORGANIZADOR

Adenilson de Souza da Fonseca
Fabio Luiz Navarro Marques
Liliane de Freitas Bauermann
Luciene das Graças Mota
Mario Bernardo-Filho
Priscilla Brunelli Pujatti
Silvia Maria Velasques de Oliveira
Thiago de Salazar e Fernandes
Valbert Nascimento Cardoso

COMITÊ CIENTÍFICO

Adenilson de Souza da Fonseca
Amir Jalilian
Antero Silva Ribeiro de Andrade
Divanizia do Nascimento Souza
Edvane Borges da Silva
Fabio Luiz Navarro Marques
João Alberto Osso-Junior
Juan F. Barquinero
Liliane de Freitas Bauermann
Luciana Malavolta Quaglio
Luciene das Graças Mota
Mario Bernardo-Filho
Nanci Nascimento
Priscilla Brunelli Pujatti
René Leyva Montaña
Silvia Maria Velasques de Oliveira
Simone Odília A. Fernandes
Thiago de Salazar e Fernandes
Valbert Nascimento Cardoso

SUMÁRIO

INDICE

	Página
Apresentação do Congresso	8
Programa do Congresso	10
Resumos: Radiobiologia, Radiofármacos, Radioproteção	
Evaluation of inflammation in the skin of ischemic hindlimb in a diabetic model using radiolabeled leukocytes	19
Marcação e controle de qualidade do β -cit marcado com $^{123/131}\text{I}$ para avaliação da doença de Parkinson	20
<i>In vivo</i> evaluation of the antimicrobial activity of the peptides LyeTx I and LyeTx I mn Δ K using $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Ceftizoxime in an experimental model of septic arthritis	21
Biodistribution profile of nanostructured lipid carrier co-loaded with doxorubicin and docosahexaenoic acid, labeled with Technetium-99m in a tumor model	22
Biodistribution profile of paclitaxel and paclitaxel liposomal radiolabeled with Technetium-99m	23
Atividade citotóxica de nanopartículas lipídicas sólidas carregadas com doxorubicina e α -succinato de tocoferila contra linhagens de células resistentes	24
Radiolabeling and biodistribution studies of DSPE-PEG ₂₀₀₀ /DSPE-PEG ₂₀₀₀ -DTPA micelles	25
Paclitaxel encapsulation in multifunctional liposomes for enhanced tumor target	26
Polyethylene glycol influence assessment in circulation and biodistribution liposomes ph- sensitive, radiolabelled with Technetium-99m in experimental models	27
Biodistribution study of chondroitin sulfate and esalazine polymeric conjugate labeled with Technetium-99m	28
Radiolabeling efficiency of peptides that interact with overexpressed receptors on tumor cells	29
Estudos de complexação do mesilato de desferoxamina com $^{99\text{m}}\text{Tc}$	30
Bacterial infection diagnosis by a peptidoglycan aptamer labeled with Technetium-99m	31
<i>Cryptococcus gattii</i> radiolabeled with Technetium-99m	32
Implementation of a quality assurance system in the hospital radiopharmacy of the Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud - National University of Asuncion (IICS /UNA) – Paraguay	33
Desenvolvimento de kit liofilizado para obtenção do traçador de hipóxia $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91	35
Propostas para adaptação da farmacopeia brasileira: definições e métodos de calibração para determinação da atividade de radiofármacos	36

INDICE

	Página
Alterações na qualidade de vida provocadas pela terapia radionuclídica com DOTATATE-177Lu: resultados preliminares	37
Efeito do resveratrol sobre a viabilidade e proliferação celular em células de câncer de mama (MCF-7) expostas à radiação ionizante	38
influência da temperatura de acondicionamento de amostras de sangue em dosimetria citogenética	39
Dosimetria de pacientes adultos submetidos a exames de PET/CT	40
Influência da radiação gama nos teores de licopeno em tomate (<i>lycopersicon esculentum mill.</i>) verdes	41
Análise fractal da cromatina como potencial indicador de exposição à radiação ionizante	42
Avaliação do potencial citotóxico da 2-Tetradecilciclobutana em células hepáticas linhagem HepG2– estudos <i>in vitro</i>	43
Avaliação de detectores para bioanálise de sangue em terapias com ¹⁷⁷ Lu e ¹³¹ I para dosimetria de medula óssea	44
Uso das dimensões generalizadas e lacunaridade na avaliação dos efeitos do campo magnético de baixa frequência sobre a vascularização da membrana do saco vitelínico	45
Estimativa de dose efetiva em exame de escore de cálcio coronariano	46
Redução da atividade edematogênica promovida pelo muco da raia de água doce <i>paratrygon aiereba</i> utilizando soro produzido contra o muco irradiado com raios gama de ⁶⁰ Co	47
Medidas de longo-prazo de radônio no interior de minas subterrâneas brasileiras	48
Proteção radiológica ocupacional no setor de medicina nuclear	49
Experimental evaluation of the protective effect of <i>arrabidaea chica</i> extract in the management of mucosa integrity	50
Efeitos da suplementação com <i>saccharomyces boulardii</i> sobre a barreira intestinal e o estresse oxidativo em ratos submetidos ao exercício físico em ambiente quente	52
Avaliação do metabolismo de células da linhagem MCF-7 sobre ação de resveratrol	53
Black grape juice ameliorates motor coordination on irradiated rat brain	54
Resumos: Biofotônica, Fototerapia, Vibrações Mecânicas	
Fotobiomodulação em células de câncer de mama após exposição à radiação ionizante	56
Estudo da terapia fotodinâmica no tratamento de leishmaniose cutânea em um modelo murino	57
Efeito do laser em baixa intensidade sobre a expressão gênica de TGF-β1 por macrófagos de fenótipo M2a	58

INDICE

Página

Effect of whole-body vibration exercises in the gait test of individuals with metabolic syndrome	59
Análise da funcionalidade dos membros inferiores de indivíduos portadores de osteoartrite do joelho após exercícios de vibração de corpo inteiro através do 5-chair test	60
Resumos: Divulgação Científica	
Radiofármacos e ensino multidisciplinar: desenvolvimento de competências ou cumprimento da legislação?	62
Radiofármacos e o impacto da opinião pública sobre as propostas dos legisladores	64
Artigos completos	
Efeito da terapia fotodinâmica no tratamento de leishmaniose cutânea em um modelo murino	67
Influence of samples conditioning temperature on cytogenetic dosimetry	78
Avaliação de detectores para bioanálise de sangue em terapias com ^{177}Lu e ^{131}I para dosimetria de medula óssea	85
Lista de primeiros autores	96

APRESENTAÇÃO DO CONGRESSO

Em 2016, as trezes sociedades que compõem a Federação das Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE) decidiram trabalhar com temas transversais. Porém, a consolidação dos assuntos propostos, talvez pelo grande número de linhas de pesquisas das sociedades, não permitiu a identificação de um denominador comum. Nesse contexto, a SBBN tomou a iniciativa de compatibilizar suas propostas com as atividades das demais sociedades. Após algum esforço, foi possível integrar em três simpósios palestrantes da SBNec, SBBq e SBBf e organizar dois cursos em conjunto com SBCAL e SBBC. Adicionalmente, agregamos dois pesquisadores da SBBN em simpósios da SBNec e SBBq. Com o resultado de integrar-nos com as sociedades co-irmãs em sete atividades das 13 programadas (3 cursos, 3 conferências e 7 módulos temáticos) acreditamos que a SBBN pode atingir o objetivo proposto.

Segundo o Prof. Barquinero, um dos palestrantes internacionais convidados, “a Radiobiologia é uma área transversal, em que não é possível a um único grupo de pesquisas dominar plenamente tudo, o que requer colaborações científicas”. No ambiente da FeSBE, encontramos a oportunidade para transformar essa afirmação em realidade.

O evento pré-congresso, Workshop “Radioimmunotherapy (RIT) and Peptide Receptor-based Radionuclide Therapy”, contou com o apoio da Agência Internacional de Energia Atômica para trazer o estado da arte de tecnologias para desenvolvimento de moléculas e produção de radioisótopos e conhecer experiências bem sucedidas em outros países.

Em 2016, a SBBN comemora 20 anos de fundação. Neste congresso, teremos oportunidade para refletir sobre desafios futuros, debatendo os temas propostos com objetividade. Devemos registrar as recomendações surgidas nas discussões e divulgar aos colegas que não puderam participar presencialmente. Temos um site razoavelmente bem estruturado e participamos das redes sociais. Podemos avançar, temos essa opção! Em um momento de grave preocupação da comunidade científica com problemas comuns, não somente orçamentários, mas também em relação ao marco regulatório e motivação dos pesquisadores e estudantes, não se justifica discutir problemas pontuais, mas devemos somar esforços em torno de metas comuns.

Silvia Maria Velasques de Oliveira
Presidente da SBBN

PROGRAMA DO XI CONGRESSO DA SBBN

PROGRAM OF THE XI SBBN CONGRESS

SEGUNDA-FEIRA, 29 DE AGOSTO DE 2016

MONDAY, AUGUST 29TH 2016

WORKSHOP “Radioimmunotherapy (RIT) and Peptide Receptor-based Radionuclide Therapy (PRRNT)”

Sponsor: International Atomic Energy Agency (IAEA)

Coordinators: René Leyva Montaña (CENTIS, Cuba), Amir Jalilian (IAEA) and Silvia Maria Velasques de Oliveira (SBBN, Brasil)

8:30 am-12:00 am

Welcome and workshop objectives - Silvia Velasques (SBBN)

The choice of radioisotopes for labelling biomolecules - Amir Jalilian (IAEA)

Radioimmunotherapy (RIT) and Peptide Receptor-based Radionuclide Therapy (PRRNT) - René Leyva Montaña (CENTIS)

Radioactive Gold Nanoparticle In Nanomedicine: Green Nanotechnology and Radiochemical Approaches - Kattesh V. Katti (Univ. Missouri, USA)

1pm-4pm

Experiences in Radioimmunotherapy in Cuba - René Leyva Montaña (CENTIS)

The role of IAEA in Radiopharmacy - Amir Jalilian (IAEA)

ARCAL CXXXVII Project: Radiopharmaceuticals for target cancer therapy in Latin America - René Leyva Montaña (CENTIS)

4:15pm-5:15pm Curso SBBC-SBBN: Simulações de materiais biológicos para avaliação de danos no DNA

Coordenador: Joel Mesa (IF-UNESP)

1^a. Aula: Processos nucleares e simulações da atenuação da radiação gama em materiais de interesse biológico - Joel Mesa (IF-UNESP)

TERÇA-FEIRA, 30 DE AGOSTO DE 2016

TUESDAY, AUGUST 30TH 2016

08h:00h-08h:50

Curso SBBN-SBCAL: Biossegurança e gestão de riscos radiológicos e químicos em laboratórios

Coordenadora: Nanci Nascimento (IPEN/CNEN/SP)

1^a. Aula: Noções de biossegurança - Nanci Nascimento (IPEN/CNEN/SP)

Curso SBBN: Bioestatística-comparando amostras

Coordenador: Adenilson de Souza da Fonseca (IBRAG-UERJ)

MC: Peptídeos derivados de peçonhas de artrópodes: como modelos de antimicrobianos, analgésicos e para tratamento da disfunção erétil - Maria Elena de Lima (UFMG)

MC: Ação antimicrobiana do peptídeo LyeTx I e LyeTx I mn k em modelo experimental de artrite induzida por S.aureus.

Simone O. A. Fernandes (UFMG)

MC: Peptídeos radiomarcados como possíveis biomarcadores para a doença de Alzheimer.

Luciana Malavolta Quaglio (FMSCSP, SBBN)

MC: Hemopressina, um peptídeo derivado da cadeia alfa da hemoglobina como modelo para o tratamento da neuropatia diabética.

Camila Dale (ICB-USP)

11h:15-12h:15 Conferência

Capacity building in the field of Radiopharmacy: International Atomic Energy Agency (IAEA) role

Apresentador: Silvia Velasques (SBBN)

Conferencista: Amir Jalilian (IAEA)

14h:00 – 14h:50 Curso SBBC- SBBN

Simulações de materiais biológicos para avaliação de danos no DNA

Coordenador: Joel Mesa (UNESP)

2^a. Aula: Sinalização de danos no DNA devido à quebras por radiação ionizante e viabilidade celular - Joel Mesa (UNESP)

TERÇA-FEIRA, 30 DE AGOSTO DE 2016

TUESDAY, AUGUST 30TH 2016

15h:00 - 17h:00 Garantia da qualidade em Radiofarmácia e Imagens: integrando competências multidisciplinares

Coordenadores: Luciene Mota (FM-UFGM) e Silvia Velasques (IRD/CNEN)

CP: Qualidade em radiofarmácia industrial, centralizada e hospitalar

Cristina Moriguchi Jekcel (InCer-PUC-RS)

MC Qualidade em aquisição e processamento de imagens cintilográficas e tomográficas em ensaios clínicos

Sergio Brunetto (CEB-UNICAMP)

CO: Propostas para adaptação da Farmacopeia Brasileira: definições e métodos de calibração para determinação da atividade de radiofármacos

Antonio Eduardo de Oliveira (LNMRI/IRD/CNEN)

15h:00-17h:00 Simpósio SBNeC-SBBN

Abordagem experimental e clínica da dor

Coordenadora: Rosana Lima Pagano (Hosp. Sírio-Libanês)

CP: Terapias não farmacológicas no tratamento da dor crônica

Marucia Chacur (ICB-USP)

MC: Analgesia top-down (induzida por tDCS) ou down-top (induzida por acupuntura) em quadro de dor neuropática: entendendo o mecanismo terapêutico

Rosana Lima Pagano (Hosp. Sírio-Libanês)

MC: Evidências clínicas e mecanismos da dor neuropática orofacial.

Silvia Regina Dowgan Tesseroli de Siqueira (EACH-USP)

MC: Efeito do exercício de vibração de corpo inteiro na redução da dor

Mario Bernardo-Filho (UERJ)

17h:15-19h:15 Sessão Painéis II

19h:30-20h:30 Assembleia da SBBN

QUARTA-FEIRA, 31 DE AGOSTO DE 2016

WEDNESDAY, AUGUST 31TH 2016

8h:00 – 8h:50

Curso SBBN-SBCAL:

Biossegurança e gestão de riscos radiológicos e químicos em laboratórios

Cordenadora: Nanci Nascimento (IPEN/CNEN/SP)

2^a. Aula: Emergências, gerência de rejeitos radioativos e controle ocupacional

Adelia Sahyun (ATOMO)

CURSO SBBN: Bioestatística-comparando amostras

Coordenador: Adenilson de Souza da Fonseca (IBRAG-UERJ)

2^a. Aula: Comparando Duas Amostras–Testes Não Paramétricos

Adenilson S. Fonseca (UERJ)

9h:00-11h:00 Módulo temático SBBN-SBFis

Imunomoduladores e barreira intestinal

Coordenadora: Simone O. A. Fernandes (FF-UFMG)

CP: O papel de imunomoduladores sobre a barreira intestinal

Valbert N. Cardoso (FF-UFMG)

MC: Alterações na permeabilidade intestinal induzidas pelo exercício físico em ambiente quente

Samuel Penna Wanner (UFMG)

MC: Estratégias de estudos clínicos com medicamentos e tecnologias em saúde além de eficácia e segurança

Priscilla Brunelli Pujatti (INCA, RJ)

11h:15 – 12h:15 Conferência

A new model of biodosimetry to integrate low and high radiation doses

Apresentador: Silvia Velasques (SBBN)

Conferencista: Juan F. Barquinero (Universidade Aberta de Barcelona, Espanha)

12h:15– 14h:00 Intervalo para almoço

14h:00 – 14h:50 Curso SBBC- SBBN

Simulações de materiais biológicos para avaliação de danos no DNA

Coordenador: Joel Mesa (UNESP)

QUARTA-FEIRA, 31 DE AGOSTO DE 2016

WEDNESDAY, AUGUST 31TH 2016

3^a. Aula: Exercícios sobre simulações de Monte Carlo
Joel Mesa (UNESP)

15h:00 - 17h:00 Simpósio

Radiogenômica e biodosimetria para avaliação de riscos em radioterapia, tomografia computadorizada e medicina nuclear

Coordenadores: Liliane Bauermann (UFSM) e Thiago de Salazar e Fernandes (UFPE)

MC: Differences in DNA Repair Capacity, Cell Death and Transcriptional Response after External Irradiation

Juan F. Barquinero (Universidade Aberta de Barcelona, Espanha)

MC: Dosimetria pediátrica em tomografia computadorizada: níveis de referência
Simone K. Renha (IRD/CNEN)

MC: Incertezas matemáticas em terapias-alvo: dosimetria de rins e medula óssea
Silvia Velasques (SBBN)

17h:15 – 19h:15 Sessão Painéis III

QUINTA-FEIRA, 1º DE SETEMBRO DE 2016

THURSDAY, SEPTEMBER 1ST 2016

8h:00 – 8h:50

Curso SBBN-SBCAL: Biossegurança e gestão de riscos radiológicos e químicos em laboratórios

Cordenadora: Nanci Nascimento (IPEN/CNEN/SP)

3ª. Aula: Gestão de riscos químicos

Fábio Luiz Navarro Marques (USP)

Curso SBBN: Bioestatística-comparando amostras

Coordenador: Adenilson de Souza da Fonseca (UERJ)

3ª. Aula: Comparando Três ou Mais Amostras

Adenilson S. Fonseca (UERJ)

9h:00-11h:00 Simpósio SBBq- SBBN

Novos aspectos do supressor p53 no micro ambiente tumoral

Coordenadora: Helena Lobo Borges (ICB-UFRJ)

CP: Agregação priônica de mutantes de p53 como novo alvo para quimioterapia anticâncer

Jerson Lima Silva (IBqM-UFRJ)

MC: Novas funções do supressor p53 no microambiente tumoral em glioblastomas

Helena Lobo Borges (ICB-UFRJ)

MC: Correlação entre doses de radiação e níveis de expressão da proteína p53 em linfócitos humanos

Thiago Salazar (UFPE)

9h:00-11h:00 Prêmio SBBN de divulgação científica

Coordenadora: Luciene G. Mota (FM-UFMG)

11h:15 – 12h:15 Conferência

Câncer como ecossistema: desafios e oportunidades para diagnóstico e terapia

Apresentador: Fabio L. N. Marques (FM-USP)

Conferencista: Roger Chammas (ICESP-FM-USP)

12h:15-14h:00 Intervalo para almoço

QUINTA-FEIRA, 1º DE SETEMBRO DE 2016

THURSDAY, SEPTEMBER 1ST 2016

14h:00-16h:00 Simpósio SBBN- SBBf

Processos sustentáveis para irradiação, esterilização e liberação de mosquitos no meio ambiente

Coordenadora: Claudia Lage (IBCCF-UFRJ)

MC: Técnica do inseto estéril: desafios e cenário internacional

Anna Lucia C. H. Villavicencio (IPEN/CNEN/SP)

MC: Projeto-piloto de liberação de insetos esterilizados na Ilha de Fernando de Noronha

Edvane Borges (DEN/UFPE-FIOCRUZ-PE)

C: Processos mutagênicos em *Aedes aegypti*

Claudia Lage (IBCCF-UFRJ)

16h:10-18h:00 Sessão Painéis IV

18h:15pm-19h:15 Conferência de Encerramento

Príon: a função biológica de uma proteína misteriosa

Conferencista: Rafael Linden (IBCCF-UFRJ)

Coordenador: Hernandes Faustino de Carvalho (IB-UNICAMP)

19h:15-20h:00 Cerimônia de encerramento e premiações

RESUMOS

ABSTRACTS

RADIOBIOLOGIA,
RADIOFÁRMACOS
&
RADIOPROTEÇÃO

RADIOBIOLOGY,
RADIOPHARMACEUTICALS
&
RADIATION PROTECTION

EVALUATION OF INFLAMMATION IN THE SKIN OF ISCHEMIC HINDLIMB IN A DIABETIC MODEL USING RADIOLABELED LEUKOCYTES

¹Moura L.P.;¹Coutinho C.R.;²Barcelos L.S.;¹Cardoso V.N.;²Freitas-Lima L.C.;²Cassini P; ¹Fernandes S.O.A.

¹Radioisotope Laboratory, Pharmacy Faculty, UFMG.²Angiogenesis Lab. Department of Pshysiology and Biophysics (ICB), UFMG, Belo Horizonte, MG

Introduction: Diabetes mellitus is considered a pandemic and is characterized by a high risk of developing vascular complications, among them Peripheral Arterial Disease (PAD). PAD is two to four times more common in diabetics than in non-diabetics and causes a reduction of blood flow in lower limbs (ischemia). The ischemia triggers a vascular and inflammatory response that can lead to the development of diabetic ischemic wounds, which can progress to necrosis and amputation of lower limbs.

Aim: Thus, we aimed to evaluate the inflammatory activity in the skin of hind limbs after ischemia in diabetic mice.

Methods: 6 weeks old balb\c mice were divided in two groups: diabetic (STZ) and nondiabetic (Control). Diabetes was induced by 50mg/kg/day of streptozotocin for five days. Hindlimb ischemia was induced by permanent left femoral artery occlusion (FAO). Confirmation of ischemia was done by laser Doppler perfusion imaging and analyzes were carried out 0, 1, 3 and 7 days after the FAO. To assess skin inflammation, we analyzed total and differential leukocyte count in peripheral blood, and in skin we analyzed macrophage and neutrophil infiltration by evaluating NAG and MPO activities, respectively, in ischemic and contralateral non-ischemic skin of hindlimbs. Also evaluated are the main recruiting chemokines these cells, CXCL1 and CCL2, respectively, histopathological sections stained with H&E and the dosage of VEGF. The leukocytes were isolated from brachial plexus and labeled with ^{99m}Tc-ECD and were injected into the tail vein of animals to conduct scintigraphic images and analyzed quantitatively by counting the radioactivity in the regions of interest.

Results: The results showed that ischemia was maintained throughout the trial period. In peripheral blood, the diabetic group had lower white blood cell count on the 3^o day (135.71 ± 13.00 Cells/mL ($\times 10^5$) after FAO, if compared with control (286.25 ± 18.07 Cells/mL ($\times 10^5$); $p < 0.001$). The inflammatory score showed that in the skin in the control group had higher score on the 3^o day after FAO and in diabetic group the score were higher on 1^o day after FAO, wherein the control group had higher concentration of neutrophils on the 3^o day (41.00 ± 1.53 ; $p < 0.001$) and on the 7^o day (19.50 ± 1.85 ; $p < 0.001$) after FAO and diabetic group had higher concentration of macrophages on the 0 day (3.67 ± 0.50 ; $p < 0.01$) e 3 (4.00 ± 1.05 ; $p < 0.001$) after FAO. When assessing the concentration of VEGF, the diabetic group presented a lower on the day 1 (208.55 ± 28.98 ; $p < 0.001$), 3 (161.3 ± 13.31 ; $p < 0.01$) e 7 (155.9 ± 7.47 ; $p < 0.01$) after FAO. In the scintigraphic images there was no difference between groups but among hindlimbs of the same animal identifying the inflammatory process.

Conclusion: Thus, our results suggest that are differences in the inflammatory profile in diabetic and control group. The images allowed identifying the inflammatory process, but new results will still be required to evaluate the use of radiolabeled leukocytes in the early identification of possible changes in the skin.

Acknowledgements: Fapemig, CNPq.

MARCAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DO β -CIT MARCADO COM $^{123}/^{131}\text{I}$ PARA AVALIAÇÃO DA DOENÇA DE PARKINSON

^{1,*}Durante A.C.R., ²Sobral D.V., ¹Miranda A.C.C., ²Malavolta L., ¹Ringheim A.M., ¹Barboza M.F.

¹Instituto do Cérebro, HIAE, São Paulo, SP, ²Ciências Fisiológicas, FCMSCSP, São Paulo, SP

Introdução: A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum na população idosa, caracterizando-se pela perda progressiva de neurônios dopaminérgicos pré-sinápticos (Rev. Neurocienc. 19:718, 2011). O diagnóstico pode ser realizado por avaliação clínica e por exames de imagem, dentre eles, a cintilografia com radiofármacos que possuem afinidade pelo transportador de dopamina pré-sináptico (DAT) (Brain 134:3146, 2011). O β -CIT (2 β -carboximetoxi-3 β -(4' [iodo]fenil)-tropano) marcado com iodo-123/131 é um potencial radiotraçador para avaliar a integridade do DAT, permitindo a diferenciação da DP do envelhecimento normal (J Nucl. Med.51:1331, 2010).

Objetivos: O objetivo deste trabalho foi estudar e validar o processo de marcação e o controle de qualidade do β -CIT com ^{131}I pelos métodos da cloramina T (CT) e do Iodogen, assim como, determinar o coeficiente de partição. Avaliar a estabilidade do β -CIT- ^{131}I em soro a 37 °C até 2h e do produto final a temperatura ambiente e a (2- 8) °C até 48h após a marcação.

Métodos: Projeto aprovado no SGPP No. 2038-14 - Hospital Israelita Albert Einstein, SP. O estudo preliminar de estabilidade em soro do produto final foi realizado numa solução padronizada de albumina humana 20% comercialmente disponível pela empresa Grifols do Brasil. Foram estudados os seguintes parâmetros com o método CT e Iodogen: massa do precursor, atividade de ^{131}I , pH da solução e tempo de reação. No controle de qualidade foram avaliados os sistemas cromatográficos: Whatman 3MM® e TLC-SG (Al); em: acetonitrila (ACN) e metanol (MeOH) em diferentes concentrações. O coeficiente de partição do β -CIT- ^{131}I foi determinado em n-octanol/salina 0,9% e a estabilidade do β -CIT- ^{131}I em soro a 37 °C, 1h e 2h. A purificação foi realizada por extração em fase sólida (EFS) em Sep-Pak C₁₈ eluído com etanol e solução salina 0,9% e, a estabilidade do produto final analisada em TLC-SG (Al) / ACN 95% até 48h em temperatura ambiente e a (2-8) °C. Amostragem de n = 9 com valor aceitável de $\pm 5\%$.

Resultados: O sistema TLC-SG (Al) em ACN 95% apresentou melhor separação entre I-131 ($R_f = 1,0$) e o β -CIT- ^{131}I ($R_f = 0,1-0,3$). Na marcação com CT utilizando: (7,4-22,2) MBq de I-131; 50 μg β -CIT, pH 3,0 e tempo de reação de 3 minutos, obteve-se um rendimento radioquímico de (96,37 \pm 0,18)% e pureza radioquímica de (97,92 \pm 1,56)% aos 60 min. A estabilidade do β -CIT- ^{131}I em soro após 1h a 37°C foi de (97,14 \pm 2,31)% com um coeficiente de partição de 0,26 \pm 0,01. A estabilidade do produto final a (2-8) °C foi de (98,04 \pm 1,35)% em 48 h. No método do Iodogen usando: (55,5-111) MBq de ^{131}I ; 50 μg β -CIT, pH 3,0 e tempo de reação de 15 minutos, apresentou um rendimento radioquímico de (98,88 \pm 0,08)% e pureza radioquímica de (97,50 \pm 0,42)% aos 60min. A estabilidade em soro após 1h a 37°C foi de (91,52 \pm 0,61)% com coeficiente de partição de 0,16 \pm 0,05. A estabilidade do β -CIT- ^{131}I a (2-8) °C foi de (95,70 \pm 1,81)% em 48h.

Conclusões: A marcação do β -CIT- ^{131}I pelo método CT e Iodogen como agentes oxidantes foram validados. Não foi observada variação significativa nos resultados em ambos os métodos, entretanto a CT apresenta menor tempo de reação e disponibilidade no mercado. A purificação pelo método de EFS resultou na obtenção de um produto com pureza radioquímica e estabilidade > 95% em 48h, considerando-o um método eficiente e rápido. O β -CIT- ^{131}I apresentou característica lipofílica com estabilidade > 90% em soro a 37°C aos 60 min. Futuros ensaios serão realizados com ^{123}I , complementando com a biodistribuição em animais e estudos *in vitro*.

Apoio financeiro: Instituto UNIEMP

IN VIVO EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE PEPTIDES LyeTx I AND LyeTx I mnΔK USING ^{99m}Tc-CEFTIZOXIME IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF SEPTIC ARTHRITIS

¹Fuscaldi L.L., ¹da Mata L.M*, ²dos Santos D.M., ²Júnior J.T.A., ²Boff D., ²de Oliveira V.L.S., ¹Contarini S.M.L., ¹Miranda S.E.M., ²Amaral F.A., ¹Fernandes S.O.A., ²Lima M.E., ¹Cardoso V.N.

¹Faculty of Pharmacy, ²Institute of Biological Sciences, UFMG, Belo Horizonte/MG

Introduction: The emergence of resistance to current antibiotics and the incidence of opportunistic bacterial infections have stimulated the search for new antibiotic agents. Antimicrobial peptides are promising molecules once they exhibit different mechanisms of action compared to classic antibiotics. The cationic peptide LyeTx I, isolated from *Lycosa erythrognatha* venom, presents *in vitro* antimicrobial activity against bacteria (**Amino Acids 39:135, 2010**), as well as its truncated derivative, LyeTx I mnΔK. The radiopharmaceutical ^{99m}Tc-Ceftizoxime (^{99m}Tc-CFT) has been proved to specifically detect infectious processes, once it accumulates in infectious foci instead of aseptic inflammation regions (Nucl Med Commun 29:830, 2008).

Aims: To evaluate the *in vivo* antimicrobial activity of the peptides LyeTx I and LyeTx I mnΔK in an experimental model of septic arthritis.

Methods: CEUA/UFMG: protocol nº 236/2014. Male C57/BL6 mice (~7 weeks; ~25 g) were used to develop the experimental model of septic arthritis. At day 0, animals were inoculated with 10 µL of a *S. aureus* (ATCC® 6538) suspension (8 x 10⁷ CFU/mL) or of sterile PBS (negative control group) by intraarticular injection (I.A.) in the right posterior articulation. At days 2, 4 and 6, mice were treated, by I.A., with clindamycin (7.35 nmol/I.A.), LyeTx I (0.08 nmol/I.A.) or LyeTx I mnΔK (0.08 nmol/I.A.), while the positive control group received saline. At day 2 (before the first treatment dose) and at day 7, ^{99m}Tc-CFT (7.4 MBq) was injected into the tail vein of mice. At 2 h after the radiopharmaceutical injection, animals were anesthetised and placed under a gamma camera. Images were acquired during 5 min and they were quantitative analysed to determine ^{99m}Tc-CFT uptake by infectious focus target to non-target ratio (T/n-T). After last images, mice were euthanized. Under sterilised conditions, right posterior articulations were harvested from animals for bacterial recovery. Quantitative data were expressed as 'mean ± error' (n = 5) and analysed by ANOVA, followed by Tukey test (p-values < 0.05).

Results: At day 2, image analysis revealed higher ^{99m}Tc-CFT uptake by infectious focus (T/n-T = 1.28±0.01) compared to the corresponding area of negative control group (T/n-T = 0.97±0.03). At day 7, images showed higher ^{99m}Tc-CFT uptake by infectious focus of positive control group (T/n-T = 1.81±0.04) compared to those groups treated with clindamycin (T/n-T = 1.04±0.06), LyeTx I (T/n-T = 1.12±0.08) and LyeTx I mnΔK (T/n-T = 1.14±0.05). These groups did not show statistical difference among them and when compared to negative control group (T/n-T = 0.95±0.02). Bacterial recovery assay was in agreement with image analysis. Data showed that the amount of bacterial recovery of positive control group (1445±223 CFU/joint) was higher than those amounts obtained for the groups treated with clindamycin (225±86 CFU/joint), LyeTx I (519±159 CFU/joint) and LyeTx I mnΔK (234±84 CFU/joint).

Conclusions: Our data revealed that LyeTx I and LyeTx I mnΔK have both potential as therapeutic agents for infectious processes induced by *S. aureus*, considering that they were used at doses about 92-times lower than that of clindamycin. Furthermore, the original peptide and the truncated derivative showed similar efficiencies, indicating that it is possible to minimize LyeTx I without compromising its antimicrobial action.

Financial Support: CAPES; CNPq; FAPEMIG; PRPq/UFMG.

BIODISTRIBUTION PROFILE OF NANOSTRUCTURED LIPID CARRIER CO-LOADED WITH DOXORUBICIN AND DOCOSAHEXAENOIC ACID, LABELED WITH TECHNETIUM-99m, IN A TUMOR MODEL

¹Fernandes R.S.;¹Silva J.O.;²Lopes S.C.A.;²Cardoso V. N.;¹Leite E.A.;¹Ferreira L.A.M.;²Barros A.L.B.

¹Departament of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, UFMG.²Departament of Clinical and Toxicological Analysis, Faculty of Pharmacy, UFMG, Belo Horizonte, MG

Introduction: Doxorubicin (DOX) is an anthracycline with broad-spectrum anti-cancer activity that is widely used in cancer therapy. However, this drug has low therapeutic index, which can limit their use due to myelosuppression and cardiotoxicity, which is potentially fatal. Anthracycline-based combination chemotherapy regimens have shown improvement in activity compared to a single drug. Among alternatives, the combination of docosahexaenoic acid (DHA), a long-chain (C22) polyunsaturated fatty acid, and DOX has been described as increasing the sensitivity of tumors to chemotherapy compared to DOX alone. However, obtaining uniform temporal and spatial co-delivery of the combined drugs remains challenging. Thus, the coencapsulation in drug delivery systems has emerged as an attractive alternative. Furthermore, these systems are capable of raising the therapeutic index, due to the more specific delivery to the tumor site, and thereby increase the effectiveness of the drugs. Among the drug delivery systems the nanostructured lipid carrier (NLC) emerges as an interesting strategy. Nuclear techniques are an interesting method to investigate the *in vivo* profiles, and to confirm the preferential uptake by the tumor area for the NLC. Radiolabeled nanoparticles represent a new class of agents with great potential for clinical applications.

Purpose: The aim of this work was to evaluate, and to compare with the free drug, the biodistribution profile of CLN co-loaded with DOX and DHA, labeled with technetium-99m (^{99m}Tc), in tumor-bearing mice.

Methods: NLC were prepared by hot melting homogenization method using an emulsification-ultrasound. The NLC were characterized as the mean diameter, zeta potential and encapsulation efficiency. CLN and free DOX were labeled with ^{99m}Tc by direct labeling method using SnCl₂.H₂O as reducing agent. 4T1 tumor model were induced in Balb/c mice (female, 8 weeks, 18-22g). Aliquots (100 μ l) with 2.5×10^6 4T1 cells were injected subcutaneously into their right thigh. Scintigraphic imaging and biodistribution studies were carried out at 1, 4, 8 and 24 hours post-injection, with both radiolabeled complexes. The liver, spleen, kidneys, stomach, heart, lungs, blood, thyroid, intestines and muscle were removed, dried on filter paper, and placed in pre-weighed plastic test tubes. All animal experiments were performed after approval by Local Ethics Committee (protocol #307/2014).

Results: Scintigraphic images and biodistribution studies (n=6) showed a high uptake in liver (38.22 ± 4.56 %DI/g) and spleen (12.16 ± 2.63 %DI/g) for the NLC, and a high uptake in the kidneys (21.57 ± 2.16 %DI/g) for the free drug. Tumor uptake was higher than the muscle, in all time points, for the both complexes. However, tumor-to-muscle ratio, at 24 hours after administration, was $5.71 \pm 0.36\%$ for NLC, while was $3.09 \pm 0.39\%$ for free DOX. Moreover, NLC tumor-to-blood ratio, at 24 hours post-injection, was $2.02 \pm 0.57\%$, which indicates that the tumor uptake was not only due to tumor vascularization. These data suggest that the nanoparticles are more capable of accumulate in the tumor region.

Conclusion: After intravenous administration, NLC showed high accumulation of radioactivity in liver and spleen, which is in agreement with is observed for other nanoscale particles. Also, the tumor uptake was higher than the muscle in all times investigated. Target-non-target ratios suggest more specificity of NLC than the free DOX.

Acknowledgements: CAPES, FAPEMIG, CNPq.

BIODISTRIBUTION PROFILE OF PACLITAXEL AND PACLITAXEL LIPOSOMAL RADIOLABELED WITH TECHNETIUM-99m

¹Monteiro L.O.F., ¹Fernandes R.S., ²Cardoso V. N., ¹de Oliveira M.C., ²Barros A.L.B., ¹Leite, E.A

¹Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG. ²Department of Clinical and Toxicological Analysis, Faculty of Pharmacy, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG

Introduction: Paclitaxel (PTX) is one of the most effective and potent antitumor used against a wide range of solid tumors. Liposome encapsulation of PTX has been found to increase the drug solubility, which offer advantages over the Cremophor EL®-based formulation, as minimize systemic toxicity and enhanced the accumulation in the cancerous tissue. Due to their potential as drug carriers, it is important to understand the kinetics and biodistribution of nanoparticles after intravenous injection. In this context, the radiolabeled nanoparticles poses an interesting alternative to investigate the in vivo profiles (Colloids Surf B, 136:553, 2015).

Purpose: The aim of this work was to evaluate the biodistribution and blood clearance of the ^{99m}Tc-labeled free-PTX (^{99m}Tc-PTX) and PTX-liposomal (^{99m}Tc-LPTX) in healthy mice.

Methods: Free-PTX dispersion were prepared in a mixture of ethanol:Cremophor EL® (1:1). PTX liposomal was made by the lipidic hydration method followed by sonication. Free-PTX and LPS-PTX were labeled with ^{99m}Tc by direct labeling method using SnCl₂.H₂O as reducing agent. The in vitro stability of the ^{99m}Tc-PTX and ^{99m}Tc-LPTX was determined in presence of saline 0.9%(w/v) and mice plasma at 1, 2, 4, 6, 8 and 24 hours (h) post-incubation. The blood half-life of these nanoparticles following intravenous injection was determined using blood samples from healthy BALB/c mice (female, 8 weeks, 20-25 g) until 24h after injection. Scintigraphic imaging and biodistribution studies were carried out at 1, 4, 8 and 24 h post-injection. The liver, spleen, kidneys, stomach, heart, lungs, thyroid, intestines and muscle were removed, dried on filter paper, and placed in pre-weighed plastic test tubes. The radioactivity was measured using an automatic scintillation apparatus. The results were expressed as %ID/g of tissue. Ethics Committee on Animal Use (CEUA) from UFMG approved the study (protocol #409/2013).

Results: The radiochemical purity carried out by ^{99m}Tc-PTX and ^{99m}Tc-LPTX was 95.8±0.3% and 98.4 ± 6.8%, respectively (n=5). In vitro stability within 24h of incubation (n=5) in plasma was 97.5±1.1% and 95.5±2.7% (^{99m}Tc-PTX and ^{99m}Tc-LPTX, respectively) and in saline solution was equal to 97.7±2.1% (^{99m}Tc-PTX) and 98.9±1.1% (^{99m}Tc-LPTX). The blood half-life was 464.3 minutes (n=8) for ^{99m}Tc-PTX and 400.06 minutes (n=8) for ^{99m}Tc-LPTX. Scintigraphic images and biodistribution studies (n=6) showed a high uptake in liver (59.8±6.6 and 58.1±3.5%DI/g), spleen (17.4±3.5 and 36.4±3.3%DI/g), and kidneys (5.5±0.6 and 3.0±0.7%DI/g) mainly at 8 h post injection for ^{99m}Tc-PTX and ^{99m}Tc-LPTX, respectively.

Conclusion: After intravenous administration, nanoparticles showed long blood circulation time. The high accumulation of radioactivity after the administration observed in liver and spleen is in agreement with that observed for other nanoscale particles. These findings suggest that ^{99m}Tc-PTX and ^{99m}Tc-LPTX can be used for delivering drugs to specific sites, including tumors.

Acknowledgment: CAPES, FAPEMIG, CNPq.

ATIVIDADE CITOTÓXICA DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS CARREGADAS COM DOXORRUBICINA E α -SUCCINATO DE TOCOFERILA CONTRA LINHAGENS DE CÉLULAS RESISTENTES

¹Oliveira M. S.,²Aryasomayajula B.,²Pattni, B.,¹Fernandes, R. S.,¹Barros, A.L.B.,¹Ferreira, L. A. M.,²Torchilin, V.

¹Universidade Federal De Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais. ²Northeastern University, Boston, Massachusetts

Introdução: A doxorubicina (Dox), um quimioterápico da classe das antraciclina, e amplamente utilizada na prática clínica, no entanto, apresenta elevada toxicidade, incidência de reações adversas e susceptibilidade para induzir resistência. O encapsulamento em nanocarreadores e em nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) representa uma alternativa para contornar este obstáculo. Recentemente, nos mostramos que associação da DOX e o α -succinato de tocoferila (ST) em NLS representa uma alternativa interessante aumento no teor de encapsulação, além de potencializar a atividade citotóxica da Dox frente a linhagens sensíveis de câncer de mama.

Objetivo: O objetivo desse trabalho é a avaliação do potencial das NLS carregadas com Dox e ST frente a células resistentes a Dox, MCF-7/Adr e NCI/Adr em modelos de monocamada e em esferoides.

Métodos: Para a condução do trabalho não foi necessário o parecer da comissão de ética em experimentação animal, uma vez que os estudos foram realizados em modelos in vitro.

A NLS carregada com Dox e ST foi preparada pelo método de homogeneização a quente e caracterizada em relação ao diâmetro médio, potencial zeta e eficiência de encapsulação (EE). Os estudos de citotoxicidade in vitro em monocamada foram conduzidos pelo método Cell Titter Blue. A avaliação da internalização da Dox foi realizada por microscopia confocal. Os esferoides foram obtidos pelo método de sobreposição líquida e a avaliação da citotoxicidade pelo método CellTiter-Glo.

Resultados: As NLS apresentaram diâmetro médio, potencial zeta e EE de 79.0 ± 1 nm, -28.0 ± 1 mV e $98.0 \pm 1\%$, respectivamente. Em monocamada com a linhagem MCF-7/adr, o IC50 da Dox livre e NLS-ST-Dox foi $26 \mu\text{M}$ e $7 \mu\text{M}$, respectivamente. Para NCI/adr, o IC50 da Dox livre e NLS-ST-Dox foi $4 \mu\text{M}$ e $1,6 \mu\text{M}$, respectivamente. A viabilidade celular no modelo de esferoides de MCF-7/adr para a Dox livre e NLS-ST-Dox foi $48 \pm 13\%$ e $14 \pm 0.8\%$, respectivamente. Já para a linhagem NCI/adr a viabilidade foi de $82 \pm 2\%$ e $57 \pm 9\%$ para Dox livre e NLS-ST-Dox, respectivamente. Tanto no modelo de monocamada quanto nos esferoides, as NLS induziram elevada citotoxicidade, quando comparadas a Dox livre. Na análise das imagens de microscopia confocal foi possível observar maior concentração da Dox no núcleo para as NLS em comparação com a Dox livre.

Conclusão: Os resultados confirmaram o potencial das NLS frente a linhagens resistentes de câncer. Esse sistema pode ser marcado com Tecnecio-99m para estudos seguintes de biodistribuição e farmacocinéticos, a fim de confirmar a captação na região tumoral in vivo.

Apoio Financeiro: FAPEMIG, CNPq, CAPES.

RADIOLABELING AND BIODISTRIBUTION STUDIES OF DSPE-PEG₂₀₀₀/DSPE-PEG₂₀₀₀-DTPA MICELLES

¹Oda C. M. R., ¹Fernandes R. S., ¹Lopes S. C., ²Cardoso V. N., ¹Alves R. J., ²Barros A. L. B.; Leite E. A.

¹Department of Pharmaceutical Products; ²Department of Clinical Analysis and Toxicology, Faculty of Pharmacy, UFMG, Belo Horizonte, MG

Introduction: Phospholipid based polymeric micelles (PM) made up of distearoyl-glycero-phosphoethanolamine-N-[methoxy(polyethylene glycol)-2000] (DSPE-PEG) are nanostructures with interesting properties in cancer treatment and diagnosis. Their physicochemical characteristics allow drugs delivery and/or imaging probes into tumors by passive targeting. (Theranostics, 2(7): 714, 2012)

Objectives: The aim of this study was to evaluate the blood circulation time and biodistribution of PM made up of DSPE-PEG/DSPE-PEG-^{99m}Tc-DTPA (^{99m}Tc-DTPA-PM).

Methods: PM were prepared by a solvent evaporation method. Size and zeta potencial of particles were measured by dynamic light scattering and electrophoretic mobility, respectively. For radiolabeling, DTPA-PM was prepared using a mixture of DSPE-PEG/DSPE-PEG-DTPA (95:5). ^{99m}TcO₄⁻ was determined by thin layer chromatography (TLC), and ^{99m}TcO₂ was removed by filtration (0.22µm). The *in vitro* stability of the ^{99m}Tc-DTPA-PM was determined in presence of saline 0.9%(w/v) and mice plasma at 1, 2, 4, 6, 8 and 24 hours (h) post-incubation at 25 and 37 °C, respectively.

In vivo studies were performed in healthy and tumor-bearing BALB/c mice, female (20–25 g), 6-8 weeks old. All *in vivo* studies were approved by Ethics Committee on Animal Use (CEUA) from UFMG (protocol n° 205/2013). The clearance was evaluated within 24h after injection. Biodistribution study was evaluated at 1, 4, 8 and 24h post-injection. The tissues were removed and the % of injected dose/g of each organ (%ID/g) was measured in a gamma counter.

Results: PM showed a unimodal distribution by DLS with an average hydrodynamic diameter of 10.0±0.2 nm and zeta potential of -2.7±1.1 mV. The DTPA-PM after labeling, showed radiochemical yield of 93.8±2.1% (n=5). It was observed a high *in vitro* stability within 24 of incubation (n=4): 97.0±0.7% (saline) and 72.0±2.5% (plasma). ^{99m}Tc-DTPA-PM showed an AUC equal to 3515.7%ID/g min⁻¹. Blood levels declined in a biphasic manner with a α half-life of 65.5 min and a β half-life of 456.3 min (n=12). Biodistribution and scintigraphic images (n=6), in both health and tumor-bearing mice, showed high uptake by liver and spleen, while the other normal tissue (heart, lung, blood, thyroid, stomach and muscle) decrease with time. Tumor presented a significant increase in uptake in first 8 hours post-injection, and, maintained a high tumor-to-contralateral muscle ratio (>2,0) in all timesframes evaluated.

Conclusion: ^{99m}Tc-DTPA-PM showed high radiolabeling yields and high stability. *In vivo* studies showed long circulation time and potential tumor targeting, indicating that this system might be a promising alternative in cancer diagnosis.

Financial support: CAPES, CNPq, FAPEMIG.

PACLITAXEL ENCAPSULATION IN MULTIFUNCTIONAL LIPOSOMES FOR ENHANCED TUMOR TARGET

¹Monteiro L.O.F., ¹Lopes S.C.A., ²Cardoso V.N., ¹de Oliveira M.C., ²Barros A.L.B., ¹Leite E.A.

¹Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, UFMG. ²Department of Clinical and Toxicological Analysis, Faculty of Pharmacy, UFMG, Belo Horizonte, MG

Introduction: Paclitaxel (PTX) is an antitumor widely used as a first-line treatment for patients with breast metastatic cancer. Although, the intravenous (IV) clinical use of PTX is limited due its low aqueous solubility. The PTX encapsulation in liposomes with high affinity for tumor sites could improve the uptake and increase its therapeutic efficacy, besides increased the drug solubility (Colloids Surf B, 136:553, 2015).

Purpose: Evaluate the antitumor effect of pH sensitive PEG-coated liposomes (SpHL-PTX) and PEG-folate coated liposomes contained PTX (SpHLF-PTX), as compared with free-PTX and control group ethanol:Cremophor EL®(1:1) in a human cell line breast cancer cell line MDA-MB-23.

Methods: The physicochemical characterization of liposomes include size, zeta potential (ZP), polydispersity index (PI) and encapsulation percentage (n=3). *In vivo* studies were performed in female nude BALB/c mice (15–20 g, 7-8 weeks) with the human breast metastatic cancer MDA-MB-231. Ethics Committee on Animal Use (CEUA) from UFMG approved the study (protocol #100/2013). The mice (n=5) received 6 doses of SpHLF-PTX, SpHL-PTX or free-PTX (7.5mg/kg each 4 days) by IV route. The control group was treated with ethanol:Cremophor EL®(1:1). Antitumor activity was evaluated over 50-day period. The tumor volume was determinate by measurement of two tumor diameters and calculated by the formula $v = \frac{a \times b^2 \times 0.52}{3}$, where *a* is the smallest diameter and *b* is the biggest one. The scintigraphic images was obtained using ^{99m}Tc-HYNIC-bAla-Bombesin(7-14), at 4 hours post-injection, in the beginning and in the end of the experiment. The target-to-non target ratio (tumor/contralateral muscle) was evaluated. The serum vascular endothelial growth factor (VEGF) was measure in the mice serum using a kit mouse VEGF (R & D Systems, EUA).

Results: SpHL-PTX and SpHLF-PTX showed similar physicochemical parameters, with a mean diameter of 185 ± 8 nm, $PI = 0.22 \pm 0.01$, $ZP = +0.8 \pm 2.5$ mV and PTX encapsulation was $89 \pm 2.9\%$. *In vivo* studies showed that treatments with PTX were able to inhibit tumor growth significantly when compared with the control group. The inhibition of the tumor growth in mice treated with SpHLF-PTX were significantly higher ($p < 0.05$) than SpHL-PTX. There was no significant difference in tumor volume for groups treated with SpHL-PTX and free-PTX ($p > 0.05$). The inhibition rate (IR) of tumor growth values were approximately 53%, 61%, and 81% for PTX, SpHL-PTX and SpHLF-PTX, respectively, when compared with control group. Between PTX formulations, the IR was 1.5 and 1.3 higher after treatment with SpHLF-PTX than after free-PTX and SpHL-PTX treatments, respectively. Scintigraphic images showed a target-to-non target ratio in control group equal to 2.08 ± 0.05 , and in the PTX-treatments ratios equal to 1.40 ± 0.06 , 1.29 ± 0.09 , and 0.88 ± 0.06 for free-PTX, SpHL-PTX, and SpHLF-PTX, respectively. Significant difference was observed between control group and PTX-treatments ($p < 0.05$). The group treated with SpHLF-PTX showed a ratio significant lower than free-PTX and SpHL-PTX ($p < 0.05$). No significant changes could be verified in the VEGF serum level for all groups ($p > 0.05$). The mean VEGF value for all animals was equal to 36.78 ± 5.3 pg/mL.

Conclusion: These findings suggest that the liposomal formulations have adequate physicochemical parameters, which allow for IV administration. *In vivo* studies showed that the antitumor activity of SpHLF-PTX was significant higher than other treatments, which shows the potential of multifunctionalized liposomes in cancer treatment.

Acknowledgment: CAPES, FAPEMIG, CNPq.

POLYETHYLENE GLYCOL INFLUENCE ASSESSMENT IN CIRCULATION AND BIODISTRIBUTION LIPOSOMES PH- SENSITIVE, RADIOLABELLED WITH TECHNETIUM – 99m IN EXPERIMENTAL MODELS

¹Nunes S.S.; ²Barros A.L.B2; ¹de Oliveira M.C.; ²Cardoso V. N.

¹Departament of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. ²Departament of Clinical and Toxicological Analysis, Faculty of Pharmacy, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG

Introduction: Liposomes are spherical vesicles formed spontaneously when phospholipids are exposed to an aqueous environment. They can be used to encapsulate and deliver hydrophilic and lipophilic substances. One limitation of these carriers is the rapid clearance from the blood circulation by the cells of reticuloendothelial system (RES). Poly(ethylene glycol) (PEG) is a highly hydrophilic polymer that has been widely used to improve the stability and pharmacokinetics of drug carriers. It creates a steric barrier preventing the adsorption of opsonin to the liposome surface and prolongs its blood circulation. In this context, there is still a lack of information about what is the best PEG for improving blood circulation time of liposomes. Therefore, studies using PEGs with different size are interesting to provide substantial data to optimize liposomal formulations.

Purpose: The aim of this work was to prepare and characterize different SpHL containing ^{99m}Tc-HYNIC- α -Ala-Bombesin₍₇₋₁₄₎ and to evaluate the influence of the molecular weight of PEG on pharmacokinetic and biodistribution of these liposomes.

Methods: Eight liposomal formulations were prepared with DOPE, CHEMS and mPEG-DSPE (molar ratio 6.5/3.0/0.5) using PEGs with three different MW (1000, 2000 and 5000) in equimolar concentrations and without PEG. The liposomes were prepared using the thin-film hydration method, followed by extrusion. The mean particle diameter and zeta potential were measured by dynamic light scattering (DLS) and electrophoretic mobility and for transmission electron criomicroscopy (cryo-TEM). The peptide bombesin was labeled with ^{99m}Tc using HYNIC as coligant and was encapsulate in the liposome by the method of freeze/thaw. The blood half-life following intravenous injection was determined using blood samples from healthy female balb/c mice, 20g, 8 weeks (n=6). The biodistribution studies and scintigraphic images was conducted after inoculation of tumor model of 4T1 and Ehrlich, on balb/c and swiss mice, respectively. All *in vivo* studies were approved by the local Ethics Committee on Animal Use (CEUA), protocol n^o 301/2014.

Results: All formulations showed mean diameter less than 300 nm, monodisperse populations, neutral zeta potential, and encapsulation content of 26.4 to 38.7%. The images obtained by cryo-TEM allowed visualization of unilamellar vesicles with an average diameter of 90 nm. Biodistribution studies and scintigraphic images showed high uptake by organs of the SMF, liver and spleen. Liposomes with DSPE, PEG2000 or PEG1000 / 5000 showed higher uptake in the tumor compared to the contralateral muscle, but there was no statistical difference between the formulations when tumor-to-muscle ratio, obtained in the biodistribution studies or scintigraphic images, was analyzed.

Conclusion: For this specific formulation, the addition of PEG was not efficient for increasing the concentration of the radiolabeled peptide in tumor tissue, however further studies to confirm this hypothesis is required.

Financial support: CAPES, FAPEMIG, CNPq.

BIODISTRIBUTION STUDY OF CHONDROITIN SULFATE AND ESALAZINE POLYMERIC CONJUGATE LABELED WITH TECHNETIUM-99m

¹Cesar A. L. A.;²Abrantes F. A.;¹Navarro, L. C.;¹Castilho, R. O.;³Siqueira, C. F.;¹Faraco A. A. G.;²Cardoso, V. N.;²Fernandes, S. O. A.

¹Departamento de Produtos Farmacêuticos, ²Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG; ³Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, PR

Introduction: Ulcerative colitis (UC) is a chronic disease that affects the colon and rectum, its symptoms (diarrhea, abdominal pain and rectal bleeding) are characterized by periods of exacerbation and remission and treated mainly by oral mesalazine (5-ASA). However, 5-ASA suffers extensive absorption on the small intestine, resulting in low concentration at the site of action and also systemic adverse effects. Polymeric prodrugs may be considered as an alternative to reduce this absorption; they are able to act as agents of targeting to the site of action. Among the various options available of polymers, chondroitin sulfate (CS) is a potential candidate because it is biodegradable, biocompatible and mucoadhesive.

Objectives: Evaluate the in vivo biodistribution profile of the conjugate (5-SC-ASA) labeled with Technetium-99m (^{99m}Tc-SC-5-ASA).

Methods: To a sealed vial containing an acetate buffer solution of 5-SC-ASA, was added 100, 250 or 500 μ L of 1 mg/mL SnCl₂.2H₂O solution in 0.25 N HCl (n=3). The pH was adjusted to 5. Next, an aliquot of 37 MBq Na^{99m}TcO₄ was added. Radiochemical yield analyses were performed by thin-layer chromatography on silica gel strips, using ethanol and ACD buffer to determine the amount of ^{99m}TcO₄ - and ^{99m}TcO₂, respectively. The stability of the ^{99m}Tc-SC-5-ASA was determined in saline at room temperature and in gastric juice at 37 °C in the period from 1 to 8 hours. For biodistribution profile, Swiss mice (25-30 g, n=6) received 100 μ L of ^{99m}Tc-SC-5-ASA with an activity of 2 MBq by oral gavage. The animals were anesthetized and euthanized at 6 and 8 h after the administration. Entire length of gastrointestinal tract (GIT) and blood were collected. Ex vivo scintigraphic images were acquired from the GIT, and then the organs were segmented into stomach, small intestine, cecum and colon. These organs and blood were placed in pre-weighed plastic test tubes and its radioactivity was measured using an automatic scintillation apparatus. A standard dosage containing the same injected amount was counted simultaneously in a separate tube, which was defined as 100% radioactivity. The results were expressed as the percentage of injected dose/g of tissue (%ID/g). The study was approved by the local Ethics Committee (Protocol 203/2015).

Results: The radiolabeled method was optimized, and the protocol with 100 μ L of SnCl₂.2H₂O showed the best radiochemical yield (90.8 \pm 0.02%). A good stability in order of 90% was observed up to 8 hours. Also on the scintigraphic images and on biodistribution study was observed that the conjugate has reached the lower GIT after 6 hours of administration (45% ID/g) and remained in place for up to 8 hours (17%ID/g). Furthermore, there was no adhesion of the compound in the stomach and small intestine, since uptake on these organs was minimal (0.11 and 0.10% ID/g respectively, after 8 h). There were a difference (p<0.05) between the organs radioactivity when compare 6 and 8 h, also the quantification in blood was minimal (0.1 and 0% ID/g for 6 and 8h respectively), indicating that the compound was not absorbed. All the data were statistically analyzed through unpaired t test using PRISM 5.0 software.

Conclusion: The compound SC-5-ASA was able to remain in the cecum and colon for up to 8 hours, suggesting a potential mucoadhesive profile.

Financial Support: Fapemig, CNPq, Capes.

RADIOLABELING EFFICIENCY OF PEPTIDES THAT INTERACT WITH OVEREXPRESSED RECEPTORS ON TUMOR CELLS

¹Sobral D.V.,²Durante A.C.R.,²Miranda A.C.C., ²Cabral F.R. ²Barboza M.F.,¹Malavolta L.

¹Department of Physiological Sciences, Santa Casa de São Paulo School of Medical Sciences, São Paulo, Brazil;²Instituto Israelita de Pesquisa Albert Einstein, São Paulo, Brazil

Introduction: Cancer cells overexpress many peptide receptors. Radiolabeled peptides that bind with high affinity and specificity to the receptors on tumor cells hold great potential for diagnostic and therapy (Thno.2:481, 2012).

Objective: The objective was to evaluate the radiolabeling efficiency of the of ¹³¹I peptides complex, as well as their interaction with the epidermal growth factor receptor (EGFR) or cell adhesion molecule integrin α V β 3, both overexpressed in a wide variety tumor, including glioblastoma.

Methods: (CEUA/1989-14). The EEEEEYFELV peptide and its analogue DEDEYFELV both with affinity for EGFR receptor and the fragment GRGDYV with high affinity for the integrin receptor were synthesized accordingly to the Fmoc protocol and purified by preparative HPLC. All the peptides were radiolabeled with a radioisotope ¹³¹I-Na. The radioiodination was evaluated and optimized using the methodology of Chloramine-T.

Radiochemical yield analyses of ¹³¹I-EEEEYFELV and ¹³¹I-DEDEYFELV peptides were performed by Whatmann 3MM using MeOH 95% and by thin layer chromatography on silica gel TLC-SG (Al) in ACN 95% for ¹³¹I-GRGDYV peptide. The radiolabeled peptides were purified by using solid phase extraction (Sep-Pak C18 filter). The stability studies *in vitro* were realized at 2, 24, 48 and 72 hours in room temperature and refrigerate (4°C). The stability was also evaluated in human serum at 37°C up to 24 hours. Partition coefficient was determinate for all radiopeptides. The percentage of the radiopeptides bound to plasma proteins was assessed by protein precipitation method (TCA 10%) and the interaction of the radiolabeled peptides with tumorigenic cells was assessed using brain homogenate of the glioblastoma animal models (n=6). The percentage of binding affinity of radiolabeled peptides to receptors was estimated by the interaction of peptides with the precipitate.

Results: The peptides EEEEEYFELV, DEDEYFELV and GRGDYV were efficiently synthesized, radiolabeled and showed radiochemical yield of 90.32% \pm 0.30, 94.67% \pm 0.27 and 97.95% \pm 0.05 (n>7), respectively, when the labelling conditions were performed at pH 7.0, 30.0 MBq of Na ¹³¹I and 25 μ g/mL of peptide in phosphate buffer. The determination of radiochemical purity showed that similar values were reached for the three peptides 92.18% \pm 1.68, 94.80% \pm 2.41 and 95.55% \pm 2.11. The stability studies showed that all the peptides were stable within 72 hours when stored in the refrigerator and up to 24 hours in human serum showing an average of radiochemical purity of 91.48% \pm 0.36, 93.61% \pm 0.28 and 89.87% \pm 0.69 (n=3) for the peptides described above, respectively. All ¹³¹I-peptides have hydrophilic features demonstrated by negative values of the partition coefficient and showed a binding percentage to plasma proteins of 59.47% \pm 0.74, 57.68% \pm 1.29 and 34.92% \pm 2.53 (n=3) Furthermore, the three radiolabeled fragments presented an affinity with tumorigenic cells related to glioblastoma in the order of 4.48% \pm 0.22 for ¹³¹I-EEEEYFELV; 4.40% \pm 0.30 for ¹³¹I-DEDEYFELV; 1.73% \pm 0.38 for ¹³¹I-GRGDYV.

Conclusion: The peptides were efficiently synthesized and the tested radiolabeling strategies showed successful results. Moreover, all the peptides demonstrated affinity for the tumor cells evaluated. These results obtained in this study are consistent to adapt in the clinical application.

Financial Support: FAPESP, CAPES and FCMSCSP (FAP).

ESTUDOS DE COMPLEXAÇÃO DO MESILATO DE DESFEROXAMINA COM ^{99m}Tc

¹Rossatto-Jr, C. A., ²Esposito, B.P., ³Marques, F.L.N.

¹Centro de Medicina Nuclear (CMN), Laboratório de Medicina Nuclear (LIM43), HCFMUSP, São Paulo, SP, ²Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, USP, ³Departamento de Radiologia e Oncologia, Faculdade de Medicina, USP, SP

Introdução: O mesilato de desferoxamina (DFO) é um agente quelante de metais, sendo utilizado na medicina como um fármaco para diminuir a concentração de Fe^{3+} plasmático, em doenças hematológicas. Na área de medicina nuclear tem sido utilizado na conjugação a peptídeos e anticorpos, e complexação de ^{68}Ga e ^{89}Zr , para utilização como agentes de diagnóstico utilizando a tecnologia de tomografia por emissão de pósitron (PET). A grande maioria dos diagnósticos realizados em medicina nuclear, utiliza o radioisótopo ^{99m}Tc , em virtude de suas características físico-químicas, obtenção a partir de sistemas geradores $^{99m}\text{Tc}/^{99}\text{Mo}$ e facilidade de preparação dos radiofármacos a partir de reconstituição de kits liofilizados. Todavia, não encontramos na literatura nenhuma publicação reportando a preparação do complexo ^{99m}Tc -DFO e possíveis aplicações.

Objetivo: O presente trabalho tem por objetivo avaliar as condições reacionais para complexação do ^{99m}Tc com DFO e estudo de estabilidade.

Métodos: Em frascos tipo penicilina foram adicionados DFO (0,01 mg; 0,1 mg; 1,0 mg; 2,5 mg ou 5,0 mg) dissolvidos em 0,5 mL de tampão (pH 5,0; 7,4 e 8,2), solução de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (1,0 - 3,0 mCi) e finalmente 0,1 mL de solução de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em HCl 0,1N (0,01 mg; 0,1 mg e 1,0 mg); o volume final foi ajustado para 1,0 mL, com os respectivos tampões, e incubado por 15,0 minutos. O eluato, de geradores eluídos previamente há 24 horas, foram utilizados 1 e 3 horas após eluição. Para avaliar a possibilidade de obter ^{99m}Tc -DFO por processo de transquelação, kits liofilizados de glucoptonato (Gh) e glucarato (Gc), foram preparados, reconstituídos com solução de ^{99m}Tc (1-3 mCi) e diferentes volumes dessas soluções foram misturadas com 100 μL de solução de DFO (1 mg/mL) e o volume completado a 1 mL com soluções tampão utilizadas anteriormente, e incubado 15 minutos a temperaturas de 25 °C e 70 °C. A pureza radioquímica (PR) foi determinada em cromatografia planar, nos seguintes sistemas: ^{99m}Tc -DFO: ITLC-SG/acetona e ITLC-SG/etanol:H₂O (50:50); ^{99m}Tc -Gh/ ^{99m}Tc -Gc: W1/acetona e TLC-SG/água H₂O) ou por HPLC utilizando coluna Synergi-Hidro RP-C18, tampão tris 10 mM pH 5/acetona nitrila, em modo gradiente, e fluxo de 1,2 mL (J. Chromatogr. B823:177, 2005).

Resultados: Os resultados demonstraram que o melhor pH para a complexação foi em 5,0, na relação DFO:SnCl₂ = 0,1:0,01 mg (D1Sn2) e com PR=87,03±4,51% (n=3), enquanto que no pH 7,4 a PR=75,07±4,88% (n=3) e, em pH 8,2 a PR=55,47±3,15% (n=3). A partir da formulação D1Sn2, o uso de solução de ^{99m}Tc eluído a não mais que 1 hora, a PR= 89,1±0,57% (n=2) enquanto após 3 horas a PR= 69,95±0,21% (n=2). A marcação dos kits de Gh e Gc com ^{99m}Tc forneceu ^{99m}Tc -Gh com PR=98,18±0,34% (n=3) e ^{99m}Tc -Gc com PR=97,88±0,38% (n=3), valores que permaneceram constantes na presença do DFO, demonstrando a impossibilidade de transquelação.

Conclusão: O estudo mostrou que o DFO tem capacidade de complexar ^{99m}Tc com PR na ordem de 87,03±4,51%. O DFO não apresentou capacidade de transquelar ^{99m}Tc a partir de complexos de ^{99m}Tc -Gh e ^{99m}Tc -Gc.

Apoio Financeiro: Fundap

BACTERIAL INFECTION DIAGNOSIS BY A PEPTIDOGLYCAN APTAMER LABELED WITH TECHNETIUM-99m

^{1,*}Ferreira I.M., ¹Lacerda C.M.S., ²Barros A. L. B.; ²Cardoso V. N.; ²Diniz S. O. F.; ¹Andrade A.S.R.

¹Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN/CNEN), Belo Horizonte, MG.

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG

Introduction: A variety of radiopharmaceuticals are used to detect infection, but long-term clinical use has shown that these probes cannot distinguish between infection and inflammation mainly because they are not specific to target bacteria. Detection of bacterial infections by scintigraphy would have the advantage that a whole body image could be obtained, since specific tracers were available. Acid nucleic aptamers are RNA or DNA oligonucleotides able of binding to a target molecule with high affinity and selectivity that are promising tools in nuclear medicine. Many aptamers have been used as targeting molecule of radiopharmaceuticals in preclinical studies.

Aim: The purpose of this study was to evaluate a peptidoglycan aptamer termed Antibac1 labeled with ^{99m}Tc for bacterial infection diagnosis by scintigraphy.

Methods: The aptamer was labeled with ^{99m}Tc by the direct method. The radiolabel yield and the stability of the complex in saline, plasma and in molar excess of cysteine was verified by ascending instant thin-layer chromatography (TLC). A ^{99m}Tc radiolabeled library consisting of oligonucleotides with random sequences was used as control. All experiments using animals were approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation of the Federal University of Minas Gerais (CETEA / UFMG), protocol n° 143/2013. Swiss mice groups (n=8) (25-30g) with about six months of age were infected in the right thigh with *Staphylococcus aureus* or *Candida albicans*. A visible swelling was observed 24 h after the intervention. So, 100 µL (35.9 MBq) of Antibac1 radiolabeled aptamer solution were injected by the tail vein in each animal

Results: The radiolabel yield after aptamers labeling with ^{99m}Tc was higher than 90% and the complex stability in saline, plasma and cysteine excess was satisfactory. In the group of animals infected with *S. aureus* was verified a higher uptake of the ^{99m}Tc radiolabeled aptamers in the infected thigh relative to the radiation measured in the left thigh muscle. A target/non-target ratio of 2.81 ± 0.67 was obtained while for the control (radiolabeled library) this ratio was 1.54 ± 0.05 . For the *C. albicans* infected group the target/non-target was substantially lower (1.49 ± 0.17), similar to the control (1.53 ± 0.03). Infected areas imaging by scintigraphy was possible only in the *S. aureus* infected animals that received the Antibac1 radiolabeled aptamer.

Conclusions: The results indicated that ^{99m}Tc radiolabeled Antibac1 aptamer was able to identify specifically the infection foci and they should be further investigated for bacterial infection diagnosis by scintigraphy.

Financial support: CDTN/CNEN, FAPEMIG and CNPq.

***Cryptococcus gattii* RADIOLABELED WITH TECHNETIUM-99m**

²Costa M.C., ¹Mata L.M., ³Vilela R.V.R., ¹Cardoso V.N., ²Santos D.A., ¹Fernandes S.O.A.

¹Laboratório de Radioisótopos, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia (UFMG). ²Laboratório de Micologia, Departamento de Microbiologia, ICB, UFMG.

³Laboratório de Microbiologia Clínica, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, UFMG

Introduction: *Cryptococcus gattii* (*C. gattii*) is one of the etiological agents of cryptococcosis, a systemic mycosis that occurs in healthy or immunosuppressed humans and animals. In Brazil, a tropical country, the disease affects patients in all regions, often generating systemic disease in HIV positive patients, who report the highest number of deaths from cryptococcosis.

Objective: To obtain technetium-99m-*C. gattii* in suitable conditions to be employed in further *Cryptococcus* disseminations investigations.

Methods: A sample (1×10^7) of *C. gattii* (L27- Coleção de Cultura do Laboratório de Micologia-ICB/UFMG) was incubated at 37°C for 10, 30 and 60 min with different concentrations of SnCl₂.2H₂O (1, 2 and 3 mg/0.5mL). After incubation, Na^{99m}TcO₄ (111 MBq) was added to each preparation and kept at 37°C for 10 min (n=3). The tubes were then centrifuged at 3000xg for 25 min and 50 uL of each supernatant and the resuspended precipitate in saline were used for determination of radioactivity. This procedure was repeated three times. The ^{99m}Tc percent incorporated into the fungus was determined using the following equation: % labeling = (cpm of precipitate/cpm of precipitate + cpm of supernatant) × 100. The samples were counted using an automated gamma counter. To stability study the ^{99m}Tc-*C. gattii* was incubated in saline at 37°C to 6 and 24 h (n=3). The fungal viability (^{99m}Tc-*C. gattii*, unlabeled *C.gattii* and *C.gattii* plus labeling reagents without technetium-99m) was evaluated into a Sabouraud dextrose agar and incubated at 37°C for 24 h (n=3). After this time, the colonies were counted and the results expressed as colony-forming units per mL (CFU/mL). All the data were statistically analyzed through unpaired *t* test using PRISM 5.0 software.

Results: The analysis concerning reducing agent concentrations (SnCl₂.2H₂O) demonstrated that 3mg/0.5mL allowed higher labeling yield *C. gattii* (94.5%±1.07). Radiolabeling process showed higher results as 98.45%±0.55 and 93.06%±0.32 to 30 and 60 min, respectively. For the subsequent experiments, the time of 30 minutes was maintained. It was observed that radiolabeling stability remained above 90% to both investigated time. The studies showed that the radiolabeling process contributed to cellular viability reduction around to 30%. Similar results were also observed in the absence of technetium-99m.

Conclusion: The results of this study showed that it is possible to label *C. gattii* efficiently with ^{99m}Tc, in suitable conditions to further applications involving studies regarding to host interaction during yeast dissemination.

Financial Support: Fapemig, CNPq, PRPq and Capes

IMPLEMENTATION OF A QUALITY ASSURANCE SYSTEM IN THE HOSPITAL RADIOPHARMACY OF THE INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD - NATIONAL UNIVERSITY OF ASUNCION (IICS /UNA) – PARAGUAY

Pedrozo MG, Giménez G, Rojas J, Grossling B, Nuñez J, Rojas T, Galván P.

Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, National University of Asunción

Email: mnuclear@iics.una.py; maglo1982@hotmail.com

Introduction: Radiopharmaceuticals used in nuclear medicine and finally administered to the patient must have a final quality guaranteed by the professionals who prepare and dispense them as well as the entire multidisciplinary team involved in measuring their activity [1]. Radiopharmaceuticals are divided into four different categories of products: ready-to-use radiopharmaceuticals, short half-life radionuclide generators, radionuclide precursors, and kits of chemical compounds for the extemporaneous preparation of radiopharmaceuticals after isotopic labelling. Most of these radiopharmaceutical products are not administered directly to patients, but used in the extemporaneous preparation of radiopharmaceuticals [2]. Due to this, the activities performed in a hospital radiopharmacy should be guided by a Quality Assurance System, to ensure the provision of effective, stable and secure radiopharmaceuticals, and sustained pharmacovigilance should be performed [3].

Objective: To propose the implementation of a Quality Assurance System in the hospital radiopharmacy of the Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud of the National University of Asuncion (IICS / A).

Methodology: Through specific training received by the professionals of the IICS/UNA's hospital radiopharmacy and participants of projects of technical cooperation with the International Atomic Energy Agency (IAEA), the following publications were used as references: Quality Management Audits in Nuclear Medicine Practices (QUANUM), the Operational Guide on Hospital Radiopharmacy: a Safe and Effective Approach, and the technical document (TECDCOC): Good Practice for Introducing Radiopharmaceuticals for Clinical Use [4], [5], [6].

Results: Manuals of Good Practice in Radiopharmacy, Manuals of Good Practice for Radiological Protection, Functions Manual, and Standard Operating Procedures were designed for the different processes and activities carried out in the Hospital Radiopharmacy that were divided into the following sub-groups: Radiopharmacy, Management Waste, Equipment and Devices for Measuring Radioactivity, Patient Care and Human Resources Training. The technical specifications of the radiopharmaceutical products were standardized as well as the equipment and devices for measuring radioactivity. Also, the register sheets and labels were designed. With the information contained in the above documents, we propose to implement a Quality Assurance System, which will be constantly updated, as the operational level of the hospital radiopharmacy develops.

Conclusion: Currently, the IIC/UNA's hospital radiopharmacy has an IA operating level, in which its operation scope is established, as well as the roles of the professionals and the facility requirements. Also, it establishes the authorized procedures that can be performed on it. The implementation of the system Quality Assurance seeks to ensure that the patient receives the appropriate radiopharmaceutical, at the right time in the right dose and the right route of administration, implementing their rational use and making pharmacovigilance of adverse reactions to which they may be associated [7].

Bibliography

[1]. R. Nuñez Miller, D. Paez, U. Bhonsle and A. Duatti. Good practice for introducing radiopharmaceuticals for clinical use / International Atomic Energy Agency. Description: Vienna:

- International Atomic Energy Agency, 2016. | Series: IAEA TECDOC series, ISSN 1011-4289; no. 1782.
- [2]. MALLOL J. Rev. Reconocimiento de los productos radiofarmacéuticos como medicamentos. O.F.I.L. 2014, 24;1:42-47.
- [3] Jesus Luis Gomez Perales Ana Agudo Martinez. A Portable Database of Adverse Reactions and Drug Interactions with Radiopharmaceuticals. JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE TECHNOLOGY Vol. 41 No. 3 September 2013.
- [4] Diana Páez, Pilar Orellana, Claudia Gutiérrez, Raúl Ramirez, Fernando Mut, and Leonel Torres. Current Status of Nuclear Medicine Practice in Latin America and the Caribbean. J Nucl Med 2015; 56:1629-1634
- [5] K. Solanki y M. Dondi. AUDITORÍAS DE GESTIÓN DE LA CALIDAD EN PRÁCTICAS DE MEDICINA NUCLEAR OIEA, VIENA, 2009.
- [6]. Solanki K. Operational guidance on hospital radiopharmacy: A safe and effective approach. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2008.
- [7] Pedrozo MG, Giménez G, Velázquez G, Galván P, Grossling B. Medicina Nuclear en el Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción (IICS-UNA): Estado actual y proyecciones. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud, Vol. 12(2) Diciembre 2014: 91-103.

DESENVOLVIMENTO DE KIT LIOFILIZADO PARA OBTENÇÃO DO TRAÇADOR DE HIPÓXIA ^{99m}Tc -HL91

¹Martins E.B., ²Marques F.L.N.

¹Centro de Medicina Nuclear (CMN), Laboratório de Medicina Nuclear (LIM43), HCFMUSP, São Paulo, SP. ²Departamento de Radiologia e Oncologia, Faculdade de Medicina, USP, São Paulo, SP

Introdução: A hipóxia tumoral é fator prognóstico negativo e fator de resistência para radioterapia e quimioterapia. Estudos recentes tem demonstrado que o ^{99m}Tc -HL91 apresenta grande potencial na detecção de áreas de hipóxia tumoral. Todavia, como não há comercialização do ligante ou de um possível kit liofilizado, este grupo anteriormente sintetizou o ligante, e agora empreende esforços para produzir um kit liofilizado de HL91, permitindo a utilização de todas as vantagens associadas ao produto (^{99m}Tc -HL91), ao processo (liofilização) e ao radioisótopo (tecnécio-99m).

Objetivo: Estudo da pré-formulação de reagentes liofilizados e condições ideais de marcação para a obtenção do radiofármaco ^{99m}Tc -HL91.

Métodos: Pré-formulação e liofilização: Foram preparadas 2 diferentes formulações: F₁: 1mg HL91, 20µg SnCl₂.2H₂O (pH 5.07); F₂: 1mg HL91, 40µg SnCl₂.2H₂O (pH 6.68), e também com formulações corrigidas para os pH 7,4; 8,5 e 10. As soluções, não esterilizadas por processo de filtração, foram liofilizadas e armazenadas entre 3 e 7 °C. Influência do D-manitol e membrana filtrante: A formulação F2, com pH 8.5, foi reproduzida com e sem adição de D-manitol como excipiente (M+ e M-). Cinco diferentes membranas filtrantes (0,22 µm) foram selecionadas: PTFE, PVDF, PES, e nylon. Foram preparadas amostras (n=5) sem filtração e esterilizadas em cada uma das membranas filtrantes e os produtos foram liofilizados. Radiomarcação e controle de qualidade: Os kits foram marcados com Na^{99m}TcO₄ com atividades de marcação de 555-740 MBq (15-20 mCi) e incubados por 15 minutos à 25°C. A pureza radioquímica foi avaliada nos sistemas: I) TLC-SG/NaCl 0,9% e II) papel Whatman 4/H₂O.

Resultados: Pré-formulação e influência do pH: Os resultados preliminares (n=1) obtidos em ausência de tampão e nas três faixas de pH são citados a seguir: Ausência de tampão: F₁ = 90,1% e F₂ = 91,3%; pH 7,4: F₁ = 57,9% e F₂ = 71,2%; pH 8,5: F₁ = 92,6 e F₂ = 97,3%; pH 10: F₁ = 92,6% e F₂ = 93,9%. Com a escolha da formulação F2 e pH 8,5 como melhor condição de marcação, a repetição do processo de marcação (n=5) forneceu pureza radioquímica de 97,4% ± 0,006 Influência do D-manitol e membrana filtrante: O uso do D-manitol como diluente, embora tenha fornecido kits excelente aspecto visual e físico, interferiu negativamente reduzindo a pureza radioquímica do produto marcado, efeito que foi pronunciado com o uso de filtro de esterilização com diferentes tipos de membrana. Pureza radioquímica HL91/M-: Sem Filtrar= 90,3±6,9%; PVDF= 87,4±11,1%; PTFE= 85,4 ±10,2%; PES= 84,3±7,6; Nylon: 68,2±27,1%. HL91/M+: Sem Filtrar= 30,9±30,9%; PVDF=49,2±34,8%; PTFE= 28,6±27,5%; PES= 21,9± 29,9%; Nylon: 27,0±33,5%.

Conclusão: Na produção de kit liofilizado de HL91 é possível obter produto com pureza radioquímica superior a 90%. Todavia, deve-se evitar o uso de agente de agregação de massa, como o manitol, e ter cuidado na escolha do material da membrana de filtração, pois elas podem interferir e diminuir a pureza radioquímica do produto marcado com Tecnécio-99m.

PROPOSTAS PARA ADAPTAÇÃO DA FARMACOPEIA BRASILEIRA: DEFINIÇÕES E MÉTODOS DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE RADIOFÁRMACOS

Oliveira A.E., Velasques de Oliveira S.M., Iwahara A., Degenhardt A., Poledna R., Silva J.C., Tauhata L., Delgado J.U.

Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD/CNEN), Rio de Janeiro

Introdução: Traçadores radioativos permitem estudar processos fisiológicos, bioquímicos e celulares com aplicações em diagnóstico ou terapia. Para garantir que o material radioativo administrado a seres humanos na forma de medicamento é seguro, o capítulo 9 da Farmacopeia Brasileira¹ introduz definições, especificações técnicas e métodos para controle da qualidade de Radiofármacos. A grandeza física diretamente mensurável é “atividade”, a qual deve ser rastreada a padrões estabelecidos pelo Bureau Internacional de Points et Mesures (BIPM). No Brasil, o LNMRI/IRD/CNEN é o laboratório designado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) para estabelecer padrões metrológicos, garantir a rastreabilidade de radiações ionizantes e participar de intercomparações internacionais entre laboratórios primários.

Objetivos: Propor revisão e adequação do capítulo 9 da Farmacopeia Brasileira, compatibilizando definições da grandeza física “atividade” ou “atividade específica” e do “sistema de calibração” e introduzir especificações técnicas para controle de qualidade da instrumentação usada em radiofarmácias industriais, centralizadas e hospitalares.

Método: Comparação da Farmacopeia Brasileira [1] com recomendações da International Commission on Radiation Units and Measurements [2], INMETRO [3] e Comissão Nacional de Energia Nuclear [4].

Resultados: Ao invés de radioatividade, que é o fenômeno, a grandeza física “atividade” deve ser definida como o número de desintegrações de um núcleo radioativo por segundo e sua unidade é becquerel (Bq) = s⁻¹. Meia-vida: distinguir meia-vida física, meia-vida biológica e meia-vida efetiva para uso assertivo de cada meia-vida em situações específicas. Substituir a expressão “sistemas de calibração” por “medidores de atividade”. Estabelecer a obrigatoriedade de atualização de energias de radionuclídeos de acordo com protocolos do LNMRI/IRD/CNEN e de testes de instrumentos de medição de atividade (câmaras de ionização ou detectores cintiladores de iodeto de sódio) para repetibilidade, ajuste do zero, radiação de fundo, alta tensão, exatidão, precisão, linearidade e teste de geometria com periodicidade definida [4] e com o uso de fontes radioativas de referência seladas e atividade mínima de 3,7 MBq. Apenas instrumentos com resolução de escala e compatível com atividades e energias dos radiofármacos manipulados podem ser usados, não sendo permitido o uso de medidor de atividade com detector do tipo Geiger-Müller. Todas estas recomendações devem ser especificadas na Farmacopeia Brasileira.

Conclusões: O presente estudo apontou a necessidade adaptação da Farmacopeia Brasileira para evitar conflitos no marco regulatório brasileiro para produção, pesquisas científicas e utilização de radiofármacos.

Referências:

[1] Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Farmacopeia Brasileira - volume 1. Brasília, 2010.

[2] International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU). Fundamental Quantities and Units for Ionizing Radiation. ICRU n°60; Bethesda, 1998.

[3] Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia. 94p, 2012.

[4] Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Requisitos de segurança e proteção radiológica para serviços de medicina nuclear. Norma NN 3.05, Rio de Janeiro, 2013.

Apoio financeiro: CNPq.

ALTERAÇÕES NA QUALIDADE DE VIDA PROVOCADAS PELA TERAPIA RADIONUCLÍDICA COM DOTATATE-177LU: RESULTADOS PRELIMINARES

Ramim J. E., Cardoso M. A. S., Guimarães T. T., Gomes M. L., Mello R. C. R., Pujatti P. B.
Instituto Nacional de Câncer (INCA-RJ)

Introdução: A terapia radionuclídica emprega moléculas radiomarcadas que conduzem seletivamente um nível citotóxico de radiação ao sítio tumoral promovendo morte celular. No Brasil, o DOTATATE-177Lu é utilizado para tratamento de tumores neuroendócrinos (NET) que expressem receptores de somatostatina. Apesar da eficácia comprovada dessa terapia, poucos estudos relatam a qualidade de vida do paciente¹.

Objetivo: Avaliar as alterações na qualidade de vida provocadas pela terapia radionuclídica com DOTATATE-177Lu em pacientes com tumores neuroendócrinos durante a terapia.

Metodologia: Trata-se de um estudo de coorte prospectivo com pacientes do Serviço de Medicina Nuclear do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), realizado de março/2015 a maio/2016. Foram incluídos pacientes maiores de 18 anos, orientados, alfabetizados, encaminhados para terapia radionuclídica com DOTATATE-177Lu e que concordaram em participar da pesquisa por meio da assinatura do “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”. Os pacientes foram admitidos para tratamento em 4 ciclos de 7,4 GBq do radiofármaco com 6 a 8 semanas de intervalo entre os ciclos². O questionário geral para avaliação da qualidade de vida EORTC-C303 foi aplicado em dois momentos: o primeiro na pré-terapia (imediatamente antes da administração da 1ª dose) e o segundo durante a terapia (imediatamente antes da administração da 3ª dose, por considerar que os pacientes concluíram metade do tratamento). Um questionário socioeconômico também foi aplicado para caracterizar o perfil dos pacientes. Os dados foram transcritos para planilha digital e foi realizada análise descritiva dos dados. O protocolo foi aprovado pelo CEP com parecer número 1.026.183.

Resultados: Até o presente, foram incluídos treze pacientes, e destes, oito concluíram a avaliação durante a terapia, sendo 50% do sexo masculino com média de idade $55,5 \pm 9,3$ anos (62,5% na faixa etária entre 51 a 60 anos). Todos os pacientes apresentavam câncer em estágio IV, sendo 37,5% NET de pâncreas. Após duas doses com DOTATATE-177Lu, 50% apresentaram melhora na saúde global e 62,5% obtiveram melhora ou não apresentaram alteração da saúde funcional. Considerando-se os sintomas, 37,5 % relataram melhora, com contribuição da redução dos sintomas gastrointestinais, e 25 % relataram aumento dos sintomas, principalmente aqueles relacionados ao tratamento.

Conclusão: Os resultados preliminares sugerem que a terapia radionuclídica de NET com DOTATATE-177Lu melhora a saúde global e funcional e reduz os sintomas gastrointestinais dos pacientes, impactando positivamente em sua qualidade de vida. A inclusão de outros pacientes no estudo e a avaliação dos pacientes três meses pós terapia estão em andamento.

Referências:

1. KHAN, S.; KRENNING, E. P.; ESSEN, M.; KAM, B. L.; TEUNISSEN, J. J.; KWEKKEBOOM, D. J. Quality of Life in 265 Patients with Gastroenteropancreatic or Bronchial Neuroendocrine Tumors Treated with [177Lu-DOTA0,Tyr3]Octreotate. *J Nucl Med* 2011; 52:1361–1368.
2. ZAKNUN J.J., BODEI L., KWEKKEBOOM D.J., et al. The joint IAEA, EANM, and SNMMI practical guidance on peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) in neuroendocrine tumours. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 2013; 40 (5): 800-816
3. AARONSON, N. K.; AHMEDZAI, S.; BERGMAN, B.; BULLINGER, M.; CULL, A.; DUEZ, N. J.; FILIBERTI, A.; FLECHTNER, H.; FLEISHMAN, S. B.; DE HAES, J. C. J. M.; KAASA, S.; KLEE, M. C.; OSOBA, D.; RAZAVI, D.; ROFE, P. B.; SCHRAUB, S.; SNEEUW, K. C. A.; SULLIVAN, M.; TAKEDA, F. The European Organisation for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: A quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *Journal of the National Cancer Institute* 1993; 85: 365-376.

EFEITO DO RESVERATROL SOBRE A VIABILIDADE E PROLIFERAÇÃO CELULAR EM CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA (MCF-7) EXPOSTAS À RADIAÇÃO IONIZANTE

¹Araldi I.C.C.*, ¹Azzolin V.F., ¹Barbisan F., ¹Silva A.R.H., ²Cadoná F.C., ³Bordin F.P.R., ³Lago P.P., ⁴Freitas R.B., ¹Cruz I.B.M., ¹Baueremann L.F.

¹Departamento de Fisiologia e Farmacologia, ²Departamento de Química, ³Departamento de Biologia, ⁴Departamento de Alimentos e Nutrição, UFSM, Rio Grande do Sul, RS

Introdução: Uma das modalidades terapêuticas amplamente utilizadas no tratamento do câncer de mama (CM) é a radioterapia. Porém, efeitos colaterais acometem os pacientes submetidos a ela, devido a sua incidência em células saudáveis, adjacentes ao tumor. Dessa forma, é interessante a investigação de compostos que possam atuar como adjuvantes para potencializar o efeito radioterápico sobre as células tumorais e ao mesmo tempo mitigar os danos nas células normais irradiadas. Neste contexto, está o resveratrol, um possível agente radiosensibilizador de células tumorais.

Objetivos: Investigar o efeito antiproliferativo do resveratrol em células humanas de CM (MCF-7) expostas à radiação ionizante.

Métodos: A execução do presente trabalho foi aprovada pela Gerência de Ensino e Pesquisa do Hospital Universitário de Santa Maria, sob parecer número 033/2015. A linhagem celular MCF-7 foi obtida da ATCC e cultivada em Dulbecco's Modified Eagle Medium, suplementado com 10 % de soro fetal bovino e 1% de penicilina/estreptomicina e anfotericina B, até atingir a confluência de 70% para a realização dos testes. Em seguida as células foram incubadas com resveratrol (10 μ M) por 24 horas e expostas à radiação X (3 Grays), de acordo com os grupos: C) controle não irradiado (DMSO), R) resveratrol não irradiado, G) controle irradiado e RG) resveratrol irradiado. O MTT foi realizado em 24 e 72 horas após a irradiação, para avaliar viabilidade e proliferação celular, respectivamente. Os dados foram analisados com ANOVA de duas vias seguida do teste post hoc de Tukey. Foram consideradas diferenças estatisticamente significativas quando $p < 0.05$.

Resultados: Em relação a viabilidade e proliferação celular, respectivamente, o grupo RG mostrou diferença significativa quando comparado aos demais grupos: C) 0,1381 \pm 0,004, R) 0,1425 \pm 0,003; G) 0,1301 \pm 0,014; RG) 0,097 \pm 0,014* e C) 0,158 \pm 0,004; R) 0,142 \pm 0,003; G) 0,130 \pm 0,014; RG) 0,090 \pm 0,008*.

Conclusões: Através destes dados preliminares é possível supor que o resveratrol na concentração de 10 μ M tem um potencial radiosensibilizador em células MCF-7 expostas à radiação ionizante. Todavia, mais estudos devem ser realizados a fim de comprovar seu papel na radiosensibilização, elucidar os mecanismos que possam estar envolvidos, bem como investigar sua atividade em células saudáveis irradiadas.

Apoio financeiro: CAPES.

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE ACONDICIONAMENTO DE AMOSTRAS DE SANGUE EM DOSIMETRIA CITOGENÉTICA

^{1,2}Fernandes T.S., ^{1,2}Leoncio S.R.; ¹Xavier A.I.F., ¹Cavalcanti M.B.; ¹Amaral A.

¹Laboratório de Modelagem e Biodosimetria Aplicada (LAMBDA/DEN/UFPE), ²Departamento de Biofísica e Radiobiologia (DBR/UFPE)

Introdução: O conhecimento da dose absorvida após exposição humana às radiações ionizantes é uma etapa fundamental para se avaliar os efeitos biológicos subsequentes. A quantificação de cromossomos dicêntricos em linfócitos do sangue periférico do indivíduo irradiado é o método padrão-ouro para este fim, sendo que, no entanto, ainda não há um consenso sobre a temperatura de acondicionamento de amostras sanguíneas (Radiat. Environ. Biophys.49:567,2010).

Objetivo: O objetivo da atual pesquisa foi investigar a possível influência de diferentes temperaturas (i.e., 4 e 37°C) nas estimativas de dose absorvida por dosimetria citogenética. **Métodos:** O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Número do Parecer: 1.102.076). Foram coletados 9 mL de sangue periférico de do indivíduo A do sexo masculino (idade de 36 anos) e 9 mL de 1 (um) indivíduo do indivíduo B (idade de 21anos), em tubos a vácuo contendo heparina e depois transferidas para seringas para poderem ser irradiadas. Antes da irradiação, as seringas foram acondicionadas em garrafa térmica contendo água a 37 °C. Após a irradiação, uma seringa foi acondicionada em garrafa térmica contendo água a 37 °C e outra em garrafa térmica contendo água a 4 °C, e mantidas nestas temperaturas por 2 horas. A temperatura foi controlada através de termômetros devidamente calibrados. As medidas das temperaturas foram realizadas antes e após a irradiação. As amostras foram irradiadas com a dose de 3 Gy de raios-X (LINAC 6MV). O cultivo de linfócitos foi realizado segundo protocolo pré-estabelecido (Radiat. Protect. Dosim. 162:254,2014), e as doses foram estimadas utilizando a Curva de Calibração previamente obtida no LAMBDA/UFPE (Braz J Med Biol Res. 48:908, 2015), por meio do software CABAS, que utiliza o Método dos Mínimos Quadrados (MMQ) obter os coeficientes linear e quadrático, e considera 95% de limite de confiança. Para as amostras controles foram analisadas 100 metáfases. Para as amostras irradiadas, foram analisadas 117 metáfases para o indivíduo A e 82 metáfases para o indivíduo B.

Resultados: As frequências de dicêntricos a 4 e a 37 °C foram de 0,4786 e 0,5556, respectivamente. Por outro lado, as frequências de fragmentos acêntricos nas temperaturas de 4 e 37 °C foram de 0,354 e 0,195, respectivamente. Com base nas frequências de dicêntricos, as doses estimadas utilizando o software CABAS foram de 2,6082 Gy para as amostras acondicionadas a 4 °C e de 2,6873 Gy para as amostras a 37 °C. Ambas as doses estimadas estão dentro dos 95% de confiança da Curva de Calibração do LAMBDA/UFPE, considerando a dose real de 3 Gy. **Conclusão:** Não houve influência da temperatura de acondicionamento das amostras sanguíneas na exatidão das estimativas de dose absorvida por dosimetria citogenética. Este resultado preliminar indica que as amostras podem ser mantidas tanto no gelo (a 4 °C), quanto à 37 °C.

DOSIMETRIA DE PACIENTES ADULTOS SUBMETIDOS A EXAMES DE PET/CT

¹Belinato W., ^{2,3}Santos W.S., ²Caldas L.V.E., ³Neves L.P., ⁴Souza D.N.

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, IFBA, Vitória da Conquista, BA, Brasil. ²Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo, SP, Brasil.

³Instituto de Física, UFU, Uberlândia, MG, Brasil. ⁴Departamento de Física, UFS, São Cristóvão, SE, Brasil

Introdução: A tomografia por emissão de pósitrons (PET) associada à tomografia computadorizada (CT), chamada PET/CT, é uma técnica diagnóstica que auxilia na determinação precisa de regiões tumorais nos pacientes. É possível determinar as doses absorvidas em adultos submetidos a exames de PET/CT por meio de simulações computacionais realizadas com o método de Monte Carlo. Dessa maneira, utilizamos o código de Monte Carlo MCNPX para realizar este estudo, como também informações contidas na ICRP 103 e ICRP 106, tanto para a técnica de PET quanto para a técnica de CT.

Objetivos: O objetivo deste trabalho é, utilizando o código MCNPX, estudar as doses efetivas a partir da determinação das doses absorvidas em órgãos internos dos pacientes em decorrência de exames de PET/CT. Para isso, foram empregados simuladores antropomórficos computacionais com representação dos órgãos e estruturas internas realistas de pacientes adultos incorporados em cenários de radiação de dois equipamentos PET/CT, modelos Discovery VCT (GE) e Biograph (Siemens).

Métodos: Para a determinação das doses devido ao exame de PET, o radionuclídeo 18F-FDG foi distribuído uniformemente em 23 órgãos internos dos simuladores adultos e, por meio do Código MCNPX, os valores das doses absorvidas por atividade injetada no paciente determinadas. As doses absorvidas devido ao exame de CT foram simuladas após a determinação dos filtros gravata-borboleta, construídos para cada um dos equipamentos. Por fim, apresentamos a dose efetiva devido ao procedimento de PET/CT considerando parâmetros comumente utilizados em exames de pacientes adultos.

Resultados: As doses efetivas estimadas nos simuladores computacionais antropomórficos adultos devido à CT são responsáveis por 14,2% e 26,3% nos equipamentos GE e Siemens, respectivamente, para um exame de PET/CT em adulto. Devido ao 18F-FDG, os coeficientes de dose para dose absorvida apresentaram um acréscimo de 30% em relação aos valores da ICRP 106. As doses efetivas para o exame de PET/CT variam com a atividade injetada no paciente e os parâmetros utilizados na tomografia. Considerando uma atividade de 370 MBq de 18F-FDG e os parâmetros 140 kVp-140 mAs para o tomógrafo GE e 130 kVp-120 mAs para o Siemens, a dose efetiva total de PET/CT foi de 8,73 mSv e 11,69 mSv considerando-se o exame realizado em equipamento da GE e 10,37 e 13,34 mSv no equipamento Siemens para os simuladores masculino e feminino, respectivamente. A atuação do recurso Care dose 4D, reduzindo 66% do mAs da Siemens, faria com que as doses da tomografia fossem idênticas às avaliadas considerando-se o exame no equipamento da GE.

Conclusão: A determinação das doses absorvidas devido ao feixe de CT e também por atividade de radiofármaco administrada no paciente possibilita o cálculo da dose efetiva total em procedimento de PET/CT, considerando as informações contidas na ICRP 103 e ICRP 106. As doses efetivas estimadas em adultos devido ao feixe de raios X são responsáveis por 14,2% e 26,3% da dose efetiva total em um exame realizados no equipamento PET/CT GE e Siemens, respectivamente. Considerando as doses efetivas devido ao 18F-FDG, os coeficientes por atividade administrada apresentaram um acréscimo de 30% em relação aos valores da ICRP 106. Em pacientes individuais, a dose efetiva pode ser estimada a partir dos parâmetros utilizados na tomografia e dos valores de atividade de radiofármaco injetada para a aquisição das imagens de PET.

Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, IFBA - Campus de Vitória da Conquista

INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA NOS TEORES DE LICOPENO EM TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) VERDES

^{1,3}Silva, E.B., ¹Araújo, L.A., ³Amaral, A., Bezerra, M. B. C. F., ^{3,4}Fernandes, T. S., ²Brandão, Y.B.

¹Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente do Centro Acadêmico de Vitória (PPGSHMA/CAV/UFPE), ²Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica do Cabo de Santo Agostinho (UACSA/UFRPE). ³Grupo de Estudos em Radioproteção e Radioecologia (GERAR/DEN/UFPE). ⁴Departamento de Biofísica e Radiobiologia (DBR/UFPE), PE

Introdução: Licopeno é um composto que se destaca pela sua forte ação antioxidante, com efeitos comprovados na redução do risco de desenvolvimento de arteriosclerose e doenças coronárias, além de reduzir o risco de câncer de próstata, pulmão, pele e bexiga. Dentre as fontes alimentares ricas neste antioxidante, o tomate é o alimento com maior concentração de licopeno, sendo que a abundância deste composto aumenta à medida que o tomate amadurece e torna-se vermelho. Como outras hortaliças, o tomate é altamente perecível, com sua conservação pós-colheita apresentando ainda grandes desafios. Por outro lado, a técnica de conservação de alimentos utilizando a radiação gama tem-se mostrado eficiente para o aumento do tempo de prateleira de diversos alimentos de origem vegetal. Neste contexto, a concentração de licopeno pode ser considerada um parâmetro para otimização do processo de conservação do tomate por radiação gama.

Objetivo: Este trabalho buscou avaliar a influência da radiação gama no teor de licopeno em tomates verdes vendidos comercialmente, para fins de aumento do tempo de prateleira.

Métodos: Amostras de tomates do cultivar Débora, de coloração verde foram adquiridas do Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco (CEASA-PE), sendo empregadas 96 unidades de tomates com peso médio de 25g, divididas em dois grupos com 48 tomates cada. Um grupo foi irradiado com uma dose de 0,5 kGy a partir de uma fonte de ⁶⁰Co, com taxa de dose de 2,629 kGy/h; enquanto que o outro, foi mantido como controle (não irradiado). A dose utilizada foi escolhida levando-se em conta dados da literatura. As análises foram realizadas em triplicatas (cada unidade considerada uma repetição), tendo o experimento a duração de 15 dias, sendo as avaliações realizadas dia sim dia não. As concentrações de licopeno foram obtidas a partir de espectrofotômetro, em um comprimento de onda de 503 nm. Para avaliar as diferenças entre os tratamentos, utilizou-se o teste estatístico ANOVA, a 5% de significância.

Resultados: As concentrações de licopeno variaram de (0,1912±0,0003) µg/g a (3,6680±0,0010) µg/g, para as amostras controle e de (0,2190±0,0020) µg/g a (0,5030±0,0020) µg/g, para amostras irradiadas. A diminuição nos teores deste antioxidante foi constatada pela análise estatística, a qual mostrou haver diferenças significativas entre os teores de licopeno entre os tratamentos.

Conclusão: A exposição das amostras de tomates à radiação gama na dose de 0,5 kGy concorreu para a diminuição dos teores de licopeno. Considerando que quanto maior o teor de licopeno mais maduro é o fruto, os resultados sugerem que a radiação gama desacelerou o processo de amadurecimento do tomate, concorrendo para um aumento do tempo de prateleira dessa hortaliça.

ANÁLISE FRACTAL DA CROMATINA COMO POTENCIAL INDICADOR DE EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO IONIZANTE

^{1,2}Iumatti A.S. F. X., ²Bezerra M. B. C. F., ²Silva E. B., ²Amaral, A., ^{1,2}Fernandes T. S.

¹Departamento de Biofísica e Radiobiologia, UFPE. ²Departamento de Energia Nuclear, UFPE, PE

Introdução: Um método comumente empregado para avaliar se um indivíduo foi exposto às radiações ionizantes é a análise de cromossomos dicêntricos em linfócitos do sangue periférico, conhecido por dosimetria citogenética. Esta técnica requer muito tempo e é laboriosa, pois requer o cultivo celular e a análise dos cromossomos em metáfase, respectivamente. Este é um fator limitante quando há um grande número de pessoas irradiadas, tal como em incidentes radiológicos (Radiat. Environ. Biophys. 49:567,2010). Uma alternativa seria encontrar novos biondicadores de rápida execução. A análise fractal, técnica que utiliza o processamento de imagens digitalizadas dos núcleos celulares, já vem sendo empregada com sucesso na identificação de diferentes tipos de cânceres (e.g., leucemias, melanomas) (Expert Rev Mol Diagn.13:719,2013). Esta metodologia considera as propriedades fractais da cromatina, isto é, autossimilaridade entre suas partes, dependência de escala e uma dimensão não inteira. Com isso, caso a célula sofra uma mutação, pode haver uma mudança conformacional da cromatina (Int J Radiat Biol.92:229, 2016). A hipótese que emerge é se esta ferramenta também pode ser útil como indicador de exposição às radiações ionizantes, com as vantagens de possuir baixo custo e de ser de rápido desempenho.

Objetivo: Esta pesquisa buscou comparar as dimensões fractais das imagens de núcleos de linfócitos irradiados *in vitro*, com aqueles não irradiados, no intuito de avaliar o possível uso deste parâmetro como indicador de exposição humana às radiações ionizantes.

Métodos: Foram coletados 2 tubos de 9 mL de sangue periférico de um indivíduo saudável (Parecer de ética nº 1.102.076). Uma amostra não irradiada foi utilizada como controle. A amostra irradiada recebeu dose de 3Gy a partir de uma fonte de ⁶⁰Co (Gammacell). Para cada grupo, foram capturadas imagens de 100 núcleos de linfócitos, utilizando o microscópio EVOS CellImaging System®. As imagens foram segmentadas e otimizadas e, em seguida, convertidas para a escala-cinza (8- bits), utilizando o programa ImageJ. Este programa também foi utilizado para o cálculo da dimensão fractal (DF) do núcleo das células pelo método de contagem por caixas. Para a intercomparação de resultados das DFs dos núcleos de 200 células, 100 irradiadas e 100 não irradiadas, foi utilizado o teste t-Student com um nível de significância de 5%.

Resultados: Os valores de DFs de 100 núcleos de linfócitos não irradiados (grupo controle) variaram de 2,4669 à 2,6202 (média de 2,5181 ± 0,030), enquanto que as dimensões de 100 núcleos de linfócitos irradiados foram de 2,4616 à 2,6323 (média de 2,5311 ± 0,036). A diferença entre as DFs dos núcleos dos dois grupos foi estatisticamente significativa (p < 0,05), permitindo, deste modo, distinguir se a amostra foi ou não irradiada, de modo similar aos estudos prévios da literatura que empregaram este método para distinguir células neoplásicas de células normais (Expert Rev Mol Diagn. 13:719,2013).

Conclusão: A dimensão fractal se mostrou um parâmetro morfométrico eficiente na identificação de células irradiadas, o que pode vir a ser útil em casos reais ou de suspeita de exposições humanas às radiações ionizantes.

Apoio financeiro: PIBIC/PROPESQ/UFPE.

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DA 2-TETRADECILCICLOBUTANA EM CÉLULAS HEPÁTICAS LINHAGEM HepG2– ESTUDOS *IN VITRO*

^{1,*}Barbezan A.B.,²Sales B.R.,¹Martins R.,¹Bueno J.B.,²Santelli G.M.M.,¹Villavicêncio A.L.C.H.

¹Centro de Tecnologia das Radiações, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo,SP. ²Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento do Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo,SP

*angelbarbezan@usp.br

Introdução: A irradiação de alimentos é um método eficaz e seguro para a preservação e armazenamento em longo prazo, é aprovado para utilização em mais de 60 países para diversas aplicações em uma ampla variedade de produtos alimentares (Agric. Food Chem. 51; 927, 2003. Food Chem. 201; 52-58, 2016). Este processo é realizado através da utilização de feixes de elétrons acelerados, raios-X ou radiação gama (⁶⁰Co ou ¹³⁷Cs). As 2-Alcilciclobutanonas (2-ACBs) são os únicos produtos radiolíticos conhecidos gerados a partir de alimentos que possuem ácidos graxos (Triglicérides) e são submetidos à irradiação (J. Food Prot. 67; 142, 2004. T. Food Scie.Tech. 44; 66-78, 2015). O ácido analisado neste estudo é o esteárico que quando irradiado forma 2-Tetradecilciclobutanona (2-tDCB). Desde a década de 1990 estudos toxicológicos de segurança das 2-ACBs tem sido conduzido extensivamente através de compostos sintéticos. Testes de mutagenicidade das 2-ACBs realizados indicam claramente que nenhuma evidência foi observada, enquanto estudos de viabilidade apresentaram citotoxicidade notada através da morte celular (Food Scie. Tech. 44; 66-78, 2015). Parte das 2-ACBs ingeridas é excretada através das fezes e parte ficam depositadas em tecidos adiposos. Estudos realizados até o momento foram somente em células de cólon. A linhagem escolhida para este trabalho é derivada de células hepáticas uma vez que o acúmulo de gordura neste órgão é bastante comum.

Objetivo: Avaliar possíveis danos citotóxicos, através do teste de viabilidade celular MTT observando a influência de diversas concentrações da 2-tDCB em diferentes tempos de incubação em células hepáticas da linhagem HepG2.

Métodos: O composto 2-tDCB foi solubilizado em etanol a 2%. A linhagem celular escolhida é derivada de hepatocarcinoma humano (HepG2) e foi cultivada em meio de cultura suplementado com 10% de soro fetal bovino. As células foram plaqueadas na densidade de 5x10³ cél/poço em uma placa de 96 poços. O efeito citotóxico da 2-tDCB foi avaliado nas concentrações de 100, 300 e 500µM, durante 24 e 48 horas. Os testes foram realizados de acordo com instruções do kit CellTiter 96 Aqueous Non-radioactive Cell Proliferation Assay, em triplicatas (biológica e experimental) e os resultados foram analisados pelo programa Prisma GraphPad.

Resultados: A linhagem tratada com 2-tDCB em 24 e 48h não apresentou citotoxicidade em nenhuma das concentrações avaliadas.

Conclusão: Não houve inviabilidade causada pelo composto 2-tDCB na linhagem de células hepática estudadas, nenhum dano foi observado em nenhuma das variações pesquisadas. Estudos mais aprofundados são necessários para identificar os mecanismos moleculares pela qual o composto em questão atua.

Apoio Financeiro: IPEN/CNEN e CNPq.

AVALIAÇÃO DE DETECTORES PARA BIOANÁLISE DE SANGUE EM TERAPIAS COM ^{177}Lu E ^{131}I PARA DOSIMETRIA DE MEDULA ÓSSEA

¹Degenhardt A. L., ²Iwahara A., ¹Velasques de Oliveira S. M.

¹Programa de Pós-graduação, Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD/CNEN),

²Laboratório Nacional de Metrologia das Radiações Ionizantes (LNMRI/IRD/CNEN), Rio de Janeiro

Introdução: Para estudos clínicos de radiofármacos, a rastreabilidade das medições é indispensável para minimizar incertezas em dosimetria interna e garantir a qualidade do padrão. Os equipamentos devem ter resolução e eficiência compatíveis com as energias dos radionuclídeos e a capacidade de quantificar variações significativas em atividades de amostras do corpo humano desde a administração do radiofármaco até próxima à atividade residual mínima detectável.

Objetivos: Testar três equipamentos (câmara de ionização Capintec 25R, cintilador de iodeto de sódio LTI Genesys Gamma-1 e detector de germânio hiperpuro Canberra) para avaliação da eficiência e desempenho nas faixas de atividades medidas e nas energias dos radionuclídeos ^{177}Lu e ^{131}I .

Metodologia: Foram preparadas fontes radioativas de ^{177}Lu e ^{131}I simulando atividades de amostras de sangue de pacientes adotando as hipóteses: (i) atividades iniciais conforme protocolos usados no país; (ii) volume de sangue no corpo inteiro (5,3 L para homens adultos e 1,4 L para crianças de 5 anos); (iii) meias-vidas efetivas (1,61 h e 42,9 h para ajuste bi-exponencial do Lu-177 e 15,7 h para ajuste monoexponencial do I-131); (iv) amostragem entre 30 min e 168 h; (v) correções para densidade do sangue. As fontes de referência foram medidas na câmara padrão secundário Centronics IG11 no Laboratório Nacional de Metrologia das Radiações Ionizantes.

Resultados: Para a câmara de ionização Capintec, as eficiências para ^{131}I e ^{177}Lu variaram respectivamente entre (111,58±0,02)% e (102,27±0,01)% e para o detector semicondutor HPGe variaram respectivamente entre (89,40±0,03)% e (87,80±0,04)%. Para o detector NaI, as eficiências para fontes de ^{177}Lu posicionadas dentro do detector variaram entre (12,66±0,01)% e (11,54±0,07)% e para fontes posicionadas a 5 cm e 10 cm do detector foram inferiores a 5%. Para fontes de ^{131}I posicionadas dentro do detector, as eficiências variaram entre (29,76±0,21)% e (30,20±0,04)% e foram inferiores a 5% quando posicionadas a 5 cm e 10 cm do detector (desvio maior do que 95%).

Conclusão: Para as energias do ^{177}Lu e do ^{131}I , não foram observadas diferenças na eficiência do detector de HPGe variando-se densidades de água e sangue. As câmaras de ionização padrão secundário e CRC 25-R não mediram atividades de fontes padrões de ^{177}Lu que simulavam tempos de coleta a partir de 24 h porque estas foram inferiores às atividades mínimas detectáveis. Os equipamentos com melhor desempenho foram câmara de ionização para amostras coletadas no primeiro dia do procedimento terapêutico e detector de HPGe para amostras coletadas a partir do segundo dia (atividades mais baixas).

Apoio financeiro: CAPES.

USO DAS DIMENSÕES GENERALIZADAS E LACUNARIDADE NA AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO CAMPO MAGNÉTICO DE BAIXA FREQUÊNCIA SOBRE A VASCULARIZAÇÃO DA MEMBRANA DO SACO VITELÍNICO

Costa, E.V.L., Nogueira, R.A.

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco.

Introdução: A membrana do saco vitelínico (MSV) de embriões de codorna japonesa (*Coturnix japonica*) é um bom modelo para o estudo do desenvolvimento vascular sanguíneo (vasculogênese e angiogênese). O campo magnético (CM) pode promover vários efeitos sobre os seres vivos, inclusive alterar o comportamento funcional e estrutural dos vasos.

Objetivos: Avaliar por meio da geometria multifractal (dimensões generalizadas -Dq) e lacunaridade (L) as imagens esquelizadas da rede vascular da MSV sob a ação de um CM de intensidade 1 mT e com frequência de 60 Hz.

Métodos: O protocolo experimental foi credenciado (proc. no 012531/2011-E09) na comissão de ética da UFRPE. Cinco grupos, com 20 ovos cada, foram incubados em uma chocadeira (37,5°C) adaptada com bobinas de Helmholtz. A partir das 48 horas de incubação foram realizadas séries de exposição ao CM com observação da vasculogênese e angiogênese da MSV. O grupo 1 (controle), as bobinas não foram ligadas. Os grupos 2, 3 e 4 foram expostos ao CM por 2, 3 e 4 horas, totalizando respectivamente, 6, 9 e 12 horas por dia. O grupo 5 foi exposto durante 24 horas. Nas 72 horas de incubação, as redes vasculares foram fotografadas. O protocolo de exposição ao CM seguiu até 96 horas de incubação, para realização de novas fotografias. As imagens dos vasos foram digitalizadas e esquelizadas para serem usadas no programa Image J com o plug-in FracLac para determinação das dimensões generalizadas (Dq) e para o cálculo do parâmetro de lacunaridade (L). Os grupos considerados com distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk foram estatisticamente comparados pelo teste de ANOVA com post-hoc de Tukey; os com distribuição não normal foram avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis com post-hoc de Dunn.

Resultados: Nas 72 horas de incubação, os valores de lacunaridade mostraram uma diferença significativa somente entre o grupo 1 ($L=0,351\pm 0,025$, $n=7$) e o grupo 3 ($L=0,441\pm 0,068$, $n=14$) para $p < 0,05$. Não houve diferença significativa entre os grupos para as 96 h de incubação. As dimensões generalizadas (Dq) em função dos seus expoentes q mostram que a rede vascular da MSV segue uma estrutura multifractal (curva sigmóide decrescente). Os valores de Dq avaliados foram de D-10 a D+10. Nas 72 horas de incubação, os valores das dimensões generalizadas de D-1 a D+10 foram significativamente diferentes para os grupos 2 ($D_0=1,51\pm 0,05$, $n=7$) e 3 ($D_0=1,51\pm 0,07$, $n=14$) em relação ao grupo controle ($D_0=1,61\pm 0,05$, $n=7$). Os valores de D-10 a D-2 não exibiram diferenças estatísticas. Em decorrência da impossibilidade de expressar todos os valores das várias dimensões generalizadas o valor de D0 (dimensão de capacidade) foi escolhido como um valor representativo da dimensão generalizada. Em 96 horas de incubação, os grupos não apresentaram diferenças significativas entre os valores de D-10 a D+10.

Conclusão: A lacunaridade e as dimensões generalizadas revelaram que a ação de CM de 1 mT e 60 Hz sobre a rede vascular sanguínea da MSV de embriões de codorna japonesa promoveu uma inibição do crescimento vascular entre 48 e 72 h de incubação para exposições de 6 h/dia e 9 h/dia.

Apoio financeiro: CAPES, FACEPE

ESTIMATIVA DE DOSE EFETIVA EM EXAME DE ESCORE DE CÁLCIO CORONARIANO**Carvalho G.N.P.; Anjos Y.C.; Aquino S.A., Fernandes D.S.E., Ferreira J.A.C., Lamounier C.S., Melo G.T., Patente M.A., Pedrosa J.F., Barreto S.B., Santana P.C.****Departamento de Anatomia e Imagem, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG**

Introdução: A aterosclerose coronariana afeta as artérias coronárias causando espessamento e perda de elasticidade da parede arterial devido à formação das placas ateroscleróticas (ateroma) e, consequente, processo de deposição de cálcio. As complicações ocasionadas pela aterosclerose vão desde o estreitamento dos vasos comprometendo o fluxo e o aporte sanguíneo até aos processos isquêmicos, angina, insuficiência cardíaca e infarto agudo do miocárdio. A calcificação da parede vascular é um acometimento específico do processo aterosclerótico e se correlaciona com a carga de placa aterosclerótica total do indivíduo. O exame de tomografia computadorizada (TC) é o padrão ouro para avaliação do Escore Cálcio Coronariano (de Agatston) devido à elevada acurácia e alta sensibilidade na detecção de calcificação nas coronárias e como método complementar. Contribui para melhor avaliação da extensão e gravidade da doença coronariana e consequências clínicas. Entretanto, ao usar radiação ionizante (raios X), contribui para aumentar a dose coletiva.

Objetivos: Estimar a dose efetiva de pacientes submetidos ao exame de TC para determinação do Escore de Cálcio Coronariano (ECC).

Métodos: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, parecer 1.154.359.

749 participantes (328 masculinos e 421 femininos) foram submetidos aos exames no tomógrafo LightSpeed VCT General Eletric do equipamento de PET-CT Discovery 690. A matriz do detector da TC tem 912 linhas x 64 canais para 58.368 elementos detectores de estado sólido. Para o cálculo de estimativa de dose efetiva (E) foi usado o Índice volumétrico de Dose (mGy) em Tomografia Computadorizada (CTDIvol) com fantoma de 32 cm, Produto Dose-Comprimento (DLP) (mGy*cm) e o valor de k em [mSv/(mGy*cm)], fator de conversão específico para a região (para o tórax é de 0,014) e os parâmetros voltagem 120 kVp e corrente 250 mA, e como referência ICRP 102 (ref.completa?). A partir de altura e peso, o sistema do equipamento e o protocolo específico do exame, pode-se obter valores de CTDIvol e DLP. O CTDI vol não é a dose absorvida, mas possui relação com a quantidade de radiação utilizada no exame, consequentemente, a quantidade de exposição ao paciente. Pacientes com tamanhos (altura, peso e volume) diferentes mas com o mesmo CTDIvol, terão doses absorvidas distintas, sendo maiores para pacientes menores.

Resultados: A dose efetiva foi (1,56±0,43) mSv, sendo para pacientes masculinos (1,65±0,49) mSv e femininos (1,50±0,37) mSv. A idade variou de 58 até 78 anos e peso e altura (75,48±15,06) kg e (1,65±0,09) m, respectivamente. No presente trabalho variações de CTDIvol não foram significativas. O DLP é o produto do CTDIvol pelo comprimento irradiado (ou varrido), e está relacionado ao risco potencial se considerada toda radiação, mas sem ponderar a sensibilidade do órgão. A partir do DLP e o fator de conversão, é possível estimar a dose efetiva (produto entre o DLP e o fator de conversão k, que leva em consideração a dose absorvida em órgãos específicos e a radiosensibilidade de cada órgão presente na região). A constante é utilizada por região corpórea (tórax), sem distinção por gênero ou por órgão.

Conclusão: Devido às características antropomórficas (peso e altura), pacientes masculinos apresentaram maior dose efetiva devido ao maior comprimento e volume de varredura. Os valores estimados estão de acordo com a literatura (entre 1 e 2 mSv). É importante a continuidade de estudos em exames de TC, técnica que vêm aumentando sua aplicabilidade e dose efetiva coletiva quando comparada com outras modalidades (cerca de 60%). Estes estudos devem considerar o perfil do paciente e adaptando o protocolo conforme gênero e biotipo.

Apoio Financeiro: FINEP, FAPEMIG, CNPq.

REDUÇÃO DA ATIVIDADE EDEMATOGÊNICA PROMOVIDA PELO MUÇO DA RAIÁ DE ÁGUA DOCE *PARATRYGON AIEREBÁ* UTILIZANDO SORO PRODUZIDO CONTRA O MUÇO IRRADIADO COM RAIOS GAMA DE ^{60}Co

¹Thomazi G. O. C.; ¹Prezotto Neto J. P.; ¹Alves G. J.; ^{1,3}Turíbio T. O.; ^{1,3}Aires R. S.; ^{1,3}Rocha A. M.;
²Seibert C. S.; ¹Spencer P. J.; ¹Nascimento N.

¹Centro de Biotecnologia, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN/SP), São Paulo, SP. ²Departamento de Biologia, Universidade Federal do Tocantins (UFT), Porto Nacional, TO. ³Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos Porto (ITPAC/PORTO), Porto Nacional, TO

Introdução: As raias são peixes peçonhentos com ampla distribuição geográfica nos principais rios brasileiros e merecem destaque por estarem frequentemente associadas a acidentes em seres humanos. Estes agravos são frequentes na região Norte do país e favorecidos pelo hábito desses peixes de permanecerem em repouso no fundo arenoso ou lamacento de águas rasas e pela frequente utilização humana dos rios, seja por lazer ou atividades ocupacionais. Os ferimentos provocados pelos ferrões das raias são dolorosos, de difícil cicatrização, causam necroses extensas e fenômenos sistêmicos. O muço que recobre toda a extensão do corpo desses peixes pode aumentar a gravidade desses ferimentos. A escassez de estudos voltados para o tratamento específico das lesões oriundas dos agravos por esses peixes, a ausência de estudos com outros gêneros de raias dulcícolas e a possibilidade de produção de soro contra o veneno de raias estimularam o desenvolvimento deste estudo utilizando a radiação ionizante que tem se mostrado vantajosa na atenuação de toxinas animais, resultando na obtenção de melhores imunógenos para a produção de soros.

Objetivo: Avaliar e comparar o potencial neutralizante dos soros anti-muço da raia *Paratrygon aiereba* nativo ou irradiado (2 kGy - ^{60}Co) contra a ação edematogênica do muço nativo.

Método: Mediante aprovação da CEUA/IPEN/SP nº126/2013 e do ICMBio n.º 45407-1/2014 foi desenvolvido este trabalho. O muço (50 µg/mL) de *P. aiereba* foi incubado em banho-maria com os soros anti-muço nativo ou soro anti-muço irradiado diluídos de 1:100 ou 1:1.000 (soros de coelhos imunizados contra o muço nativo ou irradiado por ^{60}Co de *P. aiereba*). Após a incubação, as amostras foram injetadas (30 µL) no coxim plantar da pata posterior de camundongos *Swiss* machos, 18 a 20g, (n=30). A interferência na atividade edematogênica foi verificada nos tempos de 1h, 2h, 4h e 24h após a inoculação. Em todos os animais foi verificado o volume inicial individual de cada pata antes da injeção das amostras. Os volumes foram mensurados em pletismômetro e os resultados expressos como a variação do volume em relação ao volume basal em µL por período (Exp Bio Med. 239:601, 2014). A avaliação estatística foi realizada pela análise de variância com auxílio do *software GraphPad Prism 5.0*.

Resultados: O muço de *P. aiereba* foi capaz de induzir edema de 1h a 4h após a inoculação, com declínio de 4 a 24h (p<0,01 em relação aos controles). O soro anti-muço nativo não foi capaz de inibir a formação do edema nas diluições testadas, sem diferença estatística com o edema induzido pelo muço (p>0,05). O soro anti-muço irradiado diluído 1:100 apresentou interferência significativa na atividade edematogênica nas primeiras quatro horas (p<0,01). O soro anti-muço irradiado 1:1000 foi capaz de diminuir a formação de edema nas 1ª e 4ª horas (p<0,01). O edema foi reduzido pelo soro anti-muço irradiado pré-incubado com o muço não irradiado (nativo).

Conclusão: Esse resultado mostra que além do muço irradiado ser capaz de estimular a proliferação de células de memória, ou seja, a produção de anticorpos IgG específicos, estas imunoglobulinas são capazes de reconhecer a fração responsável pela atividade edematogênica. Estes resultados nos permite concluir que o processo de irradiação tornou o muço da raia *P. aiereba* mais antigênico.

Apoio Financeiro: CNPq

MEDIDAS DE LONGO-PRAZO DE RADÔNIO NO INTERIOR DE MINAS SUBTERRÂNEAS BRASILEIRAS

^{1,2}Santos T.O., ²Rocha Z., ²Takarashi L., ³Cruz P., ³Gouvea V.A., ³Borges F.L.S., ³Siqueira J. B.

¹Departamento de Anatomia e Imagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil. ²Serviço de Meio Ambiente, Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Belo Horizonte, Brasil. ³Coordenação de Matérias Primas e Minerais, Comissão Nacional de Energia Nuclear, Rio de Janeiro, Brasil.

Introdução: Rochas, solos e águas contém ^{238}U , ^{232}Th e seus produtos de decaimento. A distribuição desses radionuclídeos difere em termos de concentração de atividade dependendo do tipo e da origem do mineral. Todo processamento técnico de minerais libera radionuclídeos de meia-vida longa e curta, principalmente o radônio e sua progênie. Diante disso, é importante monitorar o radônio e seus produtos em minas subterrâneas a fim de avaliar o risco radiológico ao qual os trabalhadores estão expostos.

Objetivos: Caracterizar a concentração de radônio e sua progênie em minas subterrâneas brasileiras.

Métodos: A concentração de radônio foi medida em 8 minas subterrâneas brasileiras utilizando o detector de traços CR-39. Esses detectores foram distribuídos ao longo das minas subterrâneas para estudar a dinâmica do radônio nesses ambientes devido às correntes de ventilação. Os pontos selecionados para amostragem foram áreas ativas das minas que retratam as condições de trabalho encontradas pelos mineiros. A quantidade de pontos amostrados variou de acordo com a extensão e a condição prática da mina estudada. A dose efetiva média anual (H) devida ao radônio para o contexto das minas subterrâneas brasileiras foi estimada de acordo com a metodologia descrita no relatório UNSCEAR 2000 baseada em estudos dosimétricos e epidemiológicos.

Resultados: As concentrações de radônio obtidas variaram consideravelmente de mina para mina e dentro da mesma mina. A concentração de radônio média varou de 122 ± 24 a 4153 ± 343 Bq.m⁻³. Cabe destacar que a maioria das minas avaliadas apresentaram pontos com concentração de radônio acima do nível de ação proposto pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) de 1000 Bq.m⁻³ estabelecidos para locais de trabalho. Com isso, os valores de dose efetiva para os trabalhadores das minas mediam o seguinte intervalo: 1 a 22 mSv.a⁻¹.

Conclusão: Portanto, os resultados mostram a relevância de avaliar continua e permanentemente o comportamento do radônio e sua progênie e de adotar medidas de segurança e proteção contra a radiação natural no ambiente interior das minas subterrâneas.

PROTEÇÃO RADIOLÓGICA OCUPACIONAL NO SETOR DE MEDICINA NUCLEAR

¹Monção M.M., ¹Coelho J.M.F., ²Figueredo J.S., ³Conceição M.S.V., ⁴Ramos, F.S., ⁵Magalhães C.H.S.

¹Departamento de Tecnologia em Saúde e Biologia, IFBA, Salvador, BA. ²PIBIT/PRPGI/IFBA, Salvador, BA. ³PIBIC/PRPGI/IFBA/FAPESB, Salvador, BA. ⁴Docente de Educação Profissional em Radiologia-INSSJT, Salvador, BA. ⁵Tecnologia em Radiologia IFBA, Salvador, BA

Introdução: O uso de fontes radioativas não seladas na medicina nuclear (MN) envolve risco de exposição contínua e de contaminação para equipe de trabalho envolvida. O efeito acumulativo da exposição radiológica ocupacional pode ser considerável em longo prazo (efeito estocástico). A complexidade inerente exige planejamento dos procedimentos, assim como a disponibilidade de equipamentos específicos para a proteção radiológica, visando à minimização da magnitude das irradiações e das probabilidades de ocorrência de contaminações.

Objetivos: Identificar fatores que interferiam na proteção radiológica dos indivíduos ocupacionalmente expostos (IOE) às radiações ionizantes no setor de MN.

Métodos: Realizou-se um estudo observacional descritivo em um setor de MN de um hospital da cidade de Salvador-BA. Através de um instrumento do tipo roteiro, coletaram-se informações dos fluxos de trabalho, instalações, equipamentos do serviço, com ênfase na proteção radiológica.

Resultados: Os ambientes, equipamentos e materiais/insumos estavam de acordo com as normas/exigências legais da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Verificou-se que o serviço realizava procedimentos com fontes de baixa energia de Tecnécio-99-metaestável (^{99m}Tc) e fontes de altas energias como Iodo-131 (¹³¹I) e Flúor-18 (¹⁸F). O serviço disponibilizava vestimentas de proteção radiológica (VPR's) do tipo avental e protetor de tireóide plumbíferos com equivalência de 0,50 mm/Pb e óculos plumbífero com 0,75 mm/Pb, para manipulação das fontes de baixas energias. As VPR's citadas não são recomendadas durante manipulação das fontes de altas energias, porém, não foi observado o uso dos óculos plumbífero durante os procedimentos com uso de ^{99m}Tc. Durante o fluxo de procedimentos, a dificuldade de posicionamento do paciente na mesa de exame e a técnica de afastamento das mamas podem aumentar o tempo de exposição dos IOEs. Para os exames de tomografia por emissão de pósitrons (PET), o tempo médio para a administração do material radioativo e posicionamento do paciente foi de 2,81 e 2,85 minutos, respectivamente.

Conclusão: É fundamental na prática diária do serviço de MN o correto uso das VPR's conforme a fonte radioativa e seu respectivo tipo de energia. O posicionamento do paciente pode ser facilitado através de orientação adequada prévia para evitar interrupções e, conseqüentemente, reduzir o tempo próximo ao paciente injetado. A falta de planejamento adequado e a não utilização das VPR's aumentam a exposição ocupacional. O menor tempo possível no manuseio das fontes radioativas através do planejamento poderá otimizar a exposição ocupacional em MN.

Apoio Financeiro: PRPGI/IFBA.

EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF *Arrabidaea chica* EXTRACT IN THE MANAGEMENT OF MUCOSA INTEGRITY

¹Takenaka I. K. T. M.;¹Barros P. A. V.;¹Moura L.P.;¹Contarini S.M.L.;²Amorim J.M.; ²Castilho R. O.;
³Leite C. M.A.;¹Cardoso V. N.;¹Fernandes S. O. A.

¹Department of Clinical and Toxicological Analysis, Pharmacy Faculty, Federal University of Minas Gerais (UFMG).²Department of Pharmaceutical Products, Pharmacy Faculty, UFMG.³Morphology Department, Institute of Biological Science, UFMG

Introduction: One of the most frequent complications of chemotherapy is the gastrointestinal mucosal inflammation, called mucositis. Mucositis affects approximately 80% of patients who receive chemotherapy combinations. The lesions are painful, restrict food intake and make patients more susceptible to systemic infections, which impact on tumor control. Although some agents and strategies are being studied for controlling mucositis, none of them is used in clinical practice. In Minas Gerais, many studies have addressed the popular use of the plant *Arrabidaea chica* in the form of tea, to treat intestinal cramps and diarrhea, the main symptoms of mucositis.

Objective: To evaluate the potential of *Arrabidaea chica* extract in the management of the integrity of the intestinal mucosa, using the experimental model of gut mucositis induced by 5-fluorouracil (5-FU).

Methods: The UFMG Ethics Committee for Animal Experimentation (CETEA/UFMG) approved this study (n^o 411/2015). Male BALB/c mice between 6-8 weeks of age were randomly divided into four groups (n=9) as follows:

1. Control (CTL) – oral administration of saline solution (10 days)
2. A. chica (AC) – oral administration of *A. chica* extract (10 days)
3. Mucositis (MUC) - underwent mucositis (5-FU) (10 days)
4. Mucositis + *A. chica* (MUC+ AC) - underwent mucositis and received oral administration of *A. chica* extract (10 days)

At the 7th day, mice in the MUC and MUC + AC groups received an intraperitoneal (IP) injection containing 300 mg/kg 5-FU, whereas the animals of the CTL and AC groups received a saline IP injection. After 72 hours (10th experimental day), intestinal permeability was determined by measuring the radioactivity diffusion in the blood after oral administration of diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) labelled with Technetium-99m (^{99m}Tc). After 4 hours, the mice were euthanized and assessed for intestinal permeability and intestinal histology. The individual amount of food ingested was evaluated every three days and the weight of the mice was measured with a semi analytical balance also every three days.

Results: Mice from the MUC group had higher weight loss compared with the control group and reduced food consumption ($p < 0.05$). However, mice that received oral administration of *A. chica* extract and underwent mucositis (MUC+AC) had reduced weight loss and higher food consumption ($p < 0.05$). Intestinal permeability was higher in the MUC group compared to the CTL group ($p < 0.05$), whereas, the animals that received *A. chica* extract and underwent mucositis, had decreased intestinal permeability compared to the MUC group mice ($p < 0.05$) (Figure 1). Histology analyses were used to assess alterations in the ileum mucosa. Mice from the MUC group showed lesions in the small intestine with cell infiltration in the lamina propria, as well as inflammation in the submucosa and muscular layers. Mice that received *A. chica* extracts and underwent mucositis showed more preserved ileum mucosa than the MUC group mice and also showed a similar histology compared to the mice from the control group.

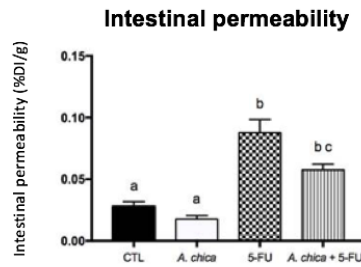


Figure 1

The results are expressed as the means \pm SD and were analyzed using GraphPad Prism version 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA). Multiple comparison analyses were performed using one-way ANOVA with Tukey post-hoc analysis. Statistical significance was set at $P < 0.05$ and indicated by different letters.

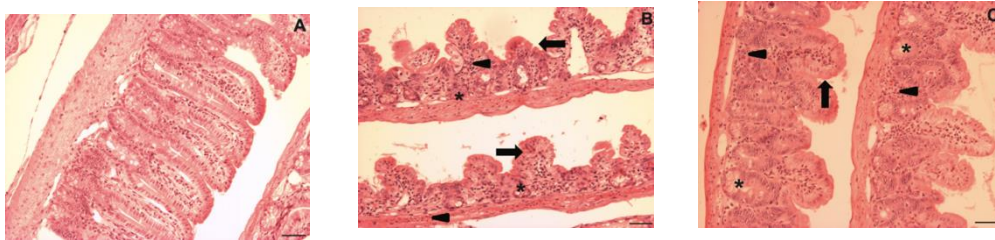


Figure 2

Normal histological aspects in mucosa were observed in mice from control (A). Shortened villi (B; arrows), inflammatory cell infiltration in lamina propria and muscular layer (B; arrowheads), and necrosis of crypt (B; asterisk) were observed in mucositis group. Mice submitted to intestinal mucositis and treated by *A. chica* extract showed partial preservation of the villi (C; arrows) and crypts (C; asterisks), presence of inflammatory cell infiltration in lamina propria (C; arrowheads), but preserved muscular layers. Bar = 50 μ m. HE staining (Figure 2).

Conclusion: The treatment with *A. chica* extract reduced the weight loss, the intestinal permeability and the inflammation, which indicates that the extract can be effective in the management of the inflammatory process in the intestinal mucosal after the chemotherapy treatment.

EFETOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM *Saccharomyces boulardii* SOBRE A BARREIRA INTESTINAL E O ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO FÍSICO EM AMBIENTE QUENTE

¹Soares, A.D.N., ²Hudson, A.S.R.*, ¹Barros, P.A.V., ¹Andrade, M.E.R., ²Wanner, S.P., ³Martins, F.S.,
⁵Almeida-Leite, C.M., ⁴Cardoso, V.N.

¹Departamento de Alimentos, Faculdade de Farmácia, ²Departamento de Educação Física,

³Departamento de Microbiologia, ⁴Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas,

⁵Departamento de Morfologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG.

Introdução: A suplementação com *Saccharomyces boulardii* (Sb), uma levedura com propriedades probióticas, exerce papel protetor ao organismo durante várias condições patológicas (World J. Gastroenterol. 16(18): 2202, 2010; Ther. Adv. Gastroenterol. 5(2); 111, 2012). No entanto, nenhum estudo investigou os efeitos da suplementação com Sb durante o exercício físico realizado em ambiente quente, condição que induz hipertermia significativa e aumento da permeabilidade intestinal.

Objetivos: Avaliar os efeitos da suplementação com Sb sobre a barreira intestinal e o estresse oxidativo em ratos submetidos a exercício físico realizado em ambiente quente.

Métodos: (CEUA UFMG: 04/2014). Três grupos de Ratos Wistar (11 semanas de idade, massa corporal entre 290-310 g) foram utilizados: controle não suplementado (C-NS) - receberam salina e foram mantidos em repouso a 24°C (n=9); hipertemia não suplementado (H-NS) - receberam salina e realizaram exercício em ambiente quente (31°C; n=9); grupo hipertermia suplementado (H-Sb) - receberam Sb e realizaram exercício a 31°C (n=9). Os tratamentos foram realizados por gavagem durante 10 dias. No décimo dia de suplementação, os ratos receberam solução de ^{99m}Tc-DTPA e foram submetidos a uma corrida em esteira rolante (15 m/min) a 31°C ou permaneceram em repouso a 24°C, durante 90 min. Após o exercício (ou repouso), foi realizada eutanásia e o sangue e intestino dos ratos foram coletados para avaliação da permeabilidade intestinal, estresse oxidativo, infiltrado inflamatório, histologia e expressão de mucina. As curvas de temperatura interna (T_{int}) foram analisadas utilizando ANOVA two-way com medidas repetidas. Os demais dados foram comparados entre os grupos utilizando ANOVA one-way. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados: O exercício realizado em ambiente quente elevou a T_{int} dos ratos pertencentes aos grupos H-NS e H-Sb em relação ao grupo C-NS, mas não foram observadas diferenças no aumento da T_{int} entre os grupos exercitados (H-NS: $40,72 \pm 0,13^\circ\text{C}$ vs H-Sb: $40,57 \pm 0,12^\circ\text{C}$; na interrupção do exercício). A hipertermia marcante no grupo H-NS induziu aumento da permeabilidade intestinal ($0,0045 \pm 0,0011$ vs $0,0013 \pm 0,0003$ % da dose administrada), aumento da peroxidação lipídica intestinal ($39,4 \pm 2,5$ vs $10,4 \pm 1,6$ $\mu\text{mol} \cdot \text{g de proteína}^{-1}$) e alterações na arquitetura da mucosa do duodeno (escore: $3,0 \pm 0,4$ vs $0,4 \pm 0,2$) imediatamente após o término do exercício no calor, em comparação ao grupo C-NS. A suplementação com Sb impediu o aumento da permeabilidade intestinal ($0,0013 \pm 0,0003$ % da dose administrada) e atenuou o dano na mucosa intestinal induzidos pelo exercício físico em ambiente quente (escore $1,8 \pm 0,4$) em relação ao grupo H-NS, além de induzir aumento na ação das enzimas antioxidantes catalase (H-Sb: $9,7 \pm 2,0$ vs H-NS: $3,8 \pm 0,8$ vs C-NS: $3,7 \pm 1,0$ $\text{E} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g proteína}^{-1}$) e SOD (H-Sb: $1,1 \pm 0,0$ vs H-NS: $0,9 \pm 0,0$ vs C-NS: $0,9 \pm 0,0$ $\text{U} \cdot \text{g proteína}^{-1}$) em comparação aos demais grupos.

Conclusão: A suplementação com Sb atenuou o aumento da permeabilidade intestinal causado pelo exercício físico em ambiente quente possivelmente devido à maior ação antioxidante induzida pelo probiótico.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq e FAPEMIG

AVALIAÇÃO DO METABOLISMO DE CÉLULAS DA LINHAGEM MCF-7 SOBRE AÇÃO DE RESVERATROL

¹Bordin, F.P.R., ¹Araldi, I.C.C., ¹Azzolin, V.F., ¹Barbisan, F., ¹Silva, A.R.H., ²Cadoná, F.C., ³Freitas, R.B.,
¹Cruz, I.B.M., ¹Bauermann, L.F.

¹Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM),
Santa Maria, RS. ²Departamento de Química, UFSM. ³Departamento de Alimentos e Nutrição,
UFSM

Introdução: O câncer de mama é o mais diagnosticado e maior causador de mortes entre mulheres no mundo. Apenas ele é responsável por 25 % dos casos e 15 % das mortes causadas por câncer em mulheres. Vários fatores estão relacionados ao seu desenvolvimento, incluindo a dieta observada pela população. Nos Estados Unidos, crê-se que um terço das mortes relacionadas ao câncer poderiam ser evitadas por uma mudança na dieta: o maior consumo de vegetais, frutas e grãos. Isso se deve a potencial ação antioxidante dos mesmos, que vêm sendo reconhecidos como possíveis preventores e aliados no tratamento à enfermidade. Neste nicho encontramos o resveratrol (3, 5, 4' - trihidroxiestilbeno), uma molécula especialmente encontrada na casca da uva (*Vitis* spp.), que possui capacidade de estimular a defesa antioxidante primária do organismo codificando enzimas antioxidantes, além de possuir descritas atividades cardioprotetora, anti-inflamatória e antitumoral.

Objetivo: Avaliar o metabolismo oxidativo de células de câncer de mama da linhagem MCF-7 com e sem a interferência do resveratrol.

Métodos: As células da linhagem MCF-7 foram obtidas da ATCC e cultivadas em Dulbecco's Modified Eagle Medium, suplementado com 10 % de soro fetal bovino e 1% de penicilina/estreptomicina e anfotericina B, até atingir a confluência de 70% para a realização dos testes. Na sequência, as células foram incubadas com resveratrol (10 μ M) por 24 horas e divididas em dois grupos: C - Controle (DMSO) e R - Resveratrol. Após, foram verificadas as atividades enzimáticas da catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e quantificação da 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina. Os dados foram analisados com ANOVA de duas vias seguida do teste post hoc de Tukey e expressos como média \pm desvio padrão. Foram consideradas diferenças estatisticamente significativas quando $p \leq 0,05$.

Resultados: Há diferenças significativas na comparação entre os dois grupos em todos os testes realizados: com CAT (C:48,167 \pm 0,7638; R:54,4 \pm 0,9644), GPx (C:17,6 \pm 1,5395; R:31,367 \pm 1,4844) e SOD (C: 24,9 \pm 03606; R: 31,867 \pm 0,4163) houve aumento na concentração em relação ao controle; em relação a 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (C: 15,967 \pm 0,2517; R: 14,1 \pm 0,4583) houve diminuição na concentração em relação ao controle.

Conclusão: O resveratrol promoveu um aumento na concentração de enzimas envolvidas no metabolismo antioxidante das células testadas e diminuiu possíveis danos ao DNA celular. Mais testes devem ser realizados visando avaliar a interação do resveratrol com outros tipos de tratamento e se isso pode torná-lo mais eficaz em afetar células cancerígenas.

Apoio financeiro: CAPES, UFSM.

BLACK GRAPE JUICE AMELIORATES MOTOR COORDINATION ON IRRADIATED RAT BRAIN

Araldi, I. C. C. , Freitas, R. B. , Lera, J. P. B. , Sevilla, M. F. G. , Athayde, M. L. , Bauermann, L. F. ,
Department of Physiology and Pharmacology - UFSM Department of Pharmaceutical Sciences -
UFSM Department of Physiology - ULE

Introdução:

Radiotherapy (RT) is one strategy for brain tumour management. RT is delivered in fractionated doses and it can cause several neurological impairments.

Objetivos:

Our study investigated the radiomodifying effect of black grape juice (BGJ) on motor coordination after whole brain irradiation (WBI) in rats assessed by rota-rod assay.

Métodos:

All animals were used according to the Committee on Care and Use of Experimental Animal Resources from University of León, León, Spain. Before WBI, 40 male Wistar rats (seven weeks old, weighing 200-250g at beginning) were anesthetized with xylazine and ketamine (7.5/60mg per kg of body weight, I.P.). The animals were placed underneath a Cerrobend® plate shielding their bodies so that only the heads were exposed to X-rays, receiving 8 fractions of 4 Gy each, delivered along 2 weeks. Rats were divided into four groups: (NG) non-irradiated, glucose and fructose solution supplemented (GFS); (NJ) non-irradiated, BGJ supplemented; (RG) irradiated, GFS supplemented; (RJ) irradiated, BGJ supplemented. Both BGJ and GFS were administered by gavage 4 days before, during, and 4 days after WBI procedure. Rota-rod tests were performed one month after WBI to assess the effect of X-rays exposure on motor coordination using a commercial apparatus. Motor performance was assessed by recording the time elapsed until the first fall off the rotating rod. Two trials (one per day) were performed over 5 min with increasing velocity (2.5 rpm every 30 s). Data were analyzed using two-way ANOVA. Results were considered statistically significant when $p < 0.05$.

Resultados:

At the first trial, no significant differences were found in the latency to fall off for all groups (NG:141.66±13.35, NJ:145.40±14.62, RG:159.54±9.86, RJ:164.85±12.36seconds). However, on the second day, irradiated rats latency was shorter than others (NG:272.00±9.23, NJ:249.60±10.11, RG:152.36±6,81 RJ:207.60±7.15 seconds). RJ group showed better motor coordination than RG group, indicating the protective effect of BGJ for cerebellar function.

Conclusão:

Preliminary results indicate that BGJ supplementation is able of mitigating alterations on cognition, motor capacity, and memory. Our hypothesis is based on the antioxidant properties of BGJ because the alterations observed on cranial RT were admittedly mediated by oxidative stress and its composition is rich in quercetin, resveratrol, caffeic acid and others.

Apoio Financeiro:

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

BIOFOTÔNICA,
FOTOBIOLOGIA
&
VIBRAÇÕES
MECÂNICAS

BIOPHOTONICS,
PHOTOBIOLOGY
&
MECHANICAL VIBRATION

FOTOBIMODULAÇÃO EM CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA APÓS EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO IONIZANTE

^{1,*}Silva, C.R.,²Luna, A.C.L.,²Maria, D.A.,¹Ribeiro, M.S.

¹Centro de Lasers e Aplicações, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo, SP, Brasil.²Divisão de Ciências Fisiológicas e Químicas, Instituto Butantan, São Paulo, SP

Introdução: A radioterapia vem sendo utilizada no tratamento de alguns tipos de câncer, causando alguns efeitos deletérios a células sadias adjacentes. A fotobimodulação (PBM) surge como uma alternativa para modular processos inflamatórios e acelerar a cicatrização de lesões, no entanto, seu uso na Oncologia é limitado já que os efeitos da PBM em células tumorais são controversos.

Objetivos: O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos da PBM em células de câncer de mama após exposição à radiação gama.

Métodos: As células de câncer de mama (MDA-MB-231) foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10 % de soro fetal bovino e armazenadas em incubadora com 5% CO₂ a 37 °C. Uma concentração de células (1x10⁵) foi colocada em placas de 96 poços em triplicata e exposta à radiação ionizante em um irradiador de fonte ⁶⁰CO tipo *Gamacell* com a dose de 10 Gy (IR₁₀). Vinte e quatro horas após a radiação ionizante, as células foram expostas à irradiação de um laser de emissão λ= 660 nm, potência de saída de 40 mW e área de 0,04 cm². A distância entre o laser e a monocamada de células foi mantida constante de modo que o laser ficasse em contato direto com o fundo da placa. O tempo de exposição foi de 60 s (IR₁₀+PMB₆₀) e 120 s (IR₁₀+PMB₁₂₀), correspondendo às energias de 2,4 e 4,8 J (PMB), respectivamente. Após vinte e quatro horas da exposição ao laser, foi verificada a viabilidade celular através do teste de exclusão com azul de tripan e contagem em hemocítômetro, o ciclo celular, expressão de pcna, caspase 3 e a proteína p53 utilizando a técnica de citometria de fluxo com canal de leitura em FL1-H do grupo não irradiado com radiação gama e não irradiado com laser (IR₀+PMB₀) e dos demais grupos. Os experimentos foram realizados em triplicata em três momentos distintos (n=9). A análise estatística foi realizada no programa *Origin Pro 8* com os testes *Shapiro Wilk* para testar normalidade, *Anova One-Way* para comparação das médias. O teste de *Tukey* foi realizado para identificar diferenças significativas quando p < 0,05.

Resultados: Os resultados obtidos mostraram que durante o período experimental analisado, a PBM não influenciou na viabilidade celular (IR₀+PMB₀=25,95±1,07, IR₁₀= 24,84±5,87, IR₁₀+PMB₆₀=26,11±1,69, IR₁₀+PMB₁₂₀= 21,72 ± 1,56, PMB= 23,45±0,33), na expressão de caspase 3 (IR₀+PMB₀=1,7±0,8, IR₁₀=1,25±0,07, IR₁₀+PMB₆₀= 1,00 ± 0,30, IR₁₀+PMB₁₂₀= 2,45±0,15, PMB= 1,55 ± 0,75) e da proteína p53 (IR₀+PMB₀=5,35 ± 1,75, IR₁₀= 6,1±1,32, IR₁₀+PMB₆₀= 5,9 ± 0,05, IR₁₀+PMB₁₂₀=6,35±1,15, PMB= 6,35±1,15), independente da energia utilizada. No ciclo celular foi possível verificar maior população nas fases S e G2/m, entretanto a expressão de pcna (IR₀+PMB₀= 14,85 ± 0,77, IR₁₀=8,65±0,91, IR₁₀+PMB₆₀= 4,35±0,85, IR₁₀+PMB₁₂₀= 6,45±1,55, PMB= 6,0±0,8) não foi significativa, mas apresentou valores inferiores comparados ao grupo IR₁₀.

Conclusões: Em vista dos resultados apresentados verificamos que a PBM não influenciou a viabilidade celular, as expressões de caspase 3, p53 e a expressão de pcna, independente da energia utilizada. Estes resultados sugerem que a PBM pode ser associada ao tratamento dos efeitos deletérios da radioterapia em pacientes oncológicos.

Apoio Financeiro: CNEN e FAPESP.

ESTUDO DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DE LEISHMANIOSE CUTÂNEA EM UM MODELO MURINO

*Cabral F.V., Silva C.R., Ribeiro M.S.

Centro de Lasers e Aplicações. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Leishmanioses são doenças infecto-parasitárias, de evolução crônica, desenvolvidas por protozoários do gênero *Leishmania*. A forma cutânea abrange lesões destrutivas e ulceradas com diversas limitações no tratamento. O surgimento de terapias alternativas é fundamental devido à grande relevância da doença e elevada incidência. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica (PDT) tem sido introduzida como possibilidade terapêutica, em função do baixo custo, mínima toxicidade, praticidade e sem relatos de resistência na literatura.

Objetivos: Avaliar os efeitos da PDT no tratamento de leishmaniose cutânea induzida em camundongos BALB/c.

Métodos: Este estudo foi aprovado pelo CEUA/IPEN sob o no. 70/10. Culturas de *L.(L.)amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8) foram mantidas a 25°C em meio Grace com 10% de soro fetal bovino. Para a infecção, foram utilizados 16 camundongos BALB/c com 8 semanas e massa aproximada de 30 g. Foram inoculados 1×10^6 parasitos no membro posterior esquerdo dos animais, que foram monitorados por 4 semanas. O tamanho de ambos os membros de cada animal foi mensurado com um paquímetro, semanalmente. Após a quarta semana de infecção, os animais foram submetidos à PDT (azul de metileno a 100 μM , $\lambda = 660 \text{ nm}$) e divididos em 4 grupos ($n=4$) de acordo com a densidade de energia utilizada: 50 J/cm^2 (**G50**), 100 J/cm^2 (**G100**), 150 J/cm^2 (**G150**) e grupo controle (GC=animais infectados e não tratados). Os animais foram anestesiados (quetamina, 90mg/kg e xilazina, 10mg/kg) e acompanhados durante 3 semanas pós-PDT para avaliar a evolução da lesão, dor e carga parasitária. Para estimar a altura da lesão, a diferença entre os dados obtidos da pata infectada e contralateral sem infecção foi calculada e normalizada. A avaliação da dor foi obtida através do método *von Frey*, que é um teste de pressão crescente utilizado em animais. Uma escala de dor de 1 a 6 foi estipulada (1= pouca e 6= grande sensibilidade). Para a carga parasitária, o tecido da lesão foi macerado, filtrado, centrifugado, ressuspenso em meio e semeado em placas de 96 poços e realizada a diluição limitante até o último poço, com fator de diluição 10. A placa foi incubada a 25°C por 7 dias. A análise estatística foi obtida no programa *Prism 6*, com os testes *Anova Two-Way* e *Tukey*. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

Resultados: Os resultados indicaram que houve diferença estatística no tamanho da lesão entre os grupos GC e G150 (GC= 259,3%±23,6, G150= 175%±19,1), (GC= 292,1%± 51, G150= 195,3%±32,1) 2 e 3 semanas após a PDT, respectivamente. Na escala de dor, observamos diferenças significativas entre GC e G150 (GC= 5,75±0,5, G150= 4,25±0,5), (GC= 6, G150= 1,25±0,5) após 2 e 3 semanas, respectivamente e GC e G100 após 3 semanas (GC= 6, G100= 4,25±0,5). Porém, nos resultados da carga parasitária não foi observada diferença significativa.

Conclusão: O presente estudo mostrou que a terapia fotodinâmica reduziu o tamanho da lesão e aliviou a dor em leishmaniose cutânea induzida em camundongos, sugerindo que a PDT pode ter influenciado no processo inflamatório. Estes resultados encorajam mais estudos para compreensão dos mecanismos da PDT no tratamento de leishmaniose cutânea.

Apoio Financeiro: CNPQ e FAPESP

EFEITO DO LASER EM BAIXA INTENSIDADE SOBRE A EXPRESSÃO GÊNICA DE TGF- β 1 POR MACRÓFAGOS DE FENÓTIPO M2a

¹Sousa K. B.,²Rodrigues M.F.S.D.,³Nunes F.D.,⁴Souza N.H.C.,^{1,4}Mesquita-Ferrari R. A.,^{1,4}Bussadori S. K.,¹Fernandes K.P.S.

¹Programa de Pós-graduação em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde, Universidade Nove de Julho (UNINOVE).²Curso de graduação em Odontologia, Universidade Nove de Julho (UNINOVE).³Departamento de Estomatologia, Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP.⁴Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), São Paulo, S.P.

Introdução: O reparo tecidual tem fases integradas que passam pela inflamação e proliferação e culminam na regeneração ou na cicatrização. Os macrófagos são apontados como componentes essenciais neste processo pela sua plasticidade e diversidade de funções. Macrófagos de fenótipo M1 produzem citocinas e quimiocinas de ação pró-inflamatória enquanto que os de fenótipo M2 (M2a, M2b e M2c) estão mais relacionados à síntese de citocinas e quimiocinas que irão atenuar a população de macrófagos M1 e seus produtos, bem como enzimas e fatores de crescimento que irão estimular a reconstrução do tecido destruído. O TGF- β 1 (Fator de crescimento transformador beta 1) é um dos produtos dos macrófagos de perfil M2, e tem funções que vão desde a modulação do processo inflamatório até o estímulo à angiogênese e a proliferação de fibroblastos. Porém, sua permanência ou alta concentração tecidual nas fases finais do reparo podem levar a quadros de fibrose. No âmbito dos recursos terapêuticos auxiliares ao reparo tecidual, o laser em baixa intensidade (LBI) tem sido muito utilizado no tratamento de diferentes lesões teciduais, mas poucos estudos avaliaram o efeito da fototerapia sobre os macrófagos e seus produtos. **Objetivo:** Avaliar o efeito da irradiação com LBI vermelho (660 nm) e infravermelho (780 nm) sobre a expressão gênica de *TGF β 1* por macrófagos de perfil M2a. **Metodologia:** Macrófagos da linhagem J774 foram cultivados, por 24 horas, em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, L-glutamina (2mM) e 0,1 μ g /mL de IL-4 para induzir a mudança para o fenótipo M2a. Posteriormente, as células foram centrifugadas e irradiadas com LBI de 660nm e 780 nm (70mW; 17,5J/cm², 14,3 seg). Após 24h da irradiação, as culturas (1x10⁶ células/placa de Petri) foram coletadas para avaliação da expressão gênica do fator de crescimento TGF β 1 utilizando RNEasy Micro kit (Qiagen, Hilden-Alemanha) para isolamento do RNA e os Kits RT² First Strand e RT² SYBR Green ROX qPCR Mastermix (Qiagen, Maryland – EUA) para síntese do DNA complementar e qPCR array de acordo com recomendações do fabricante. Culturas não tratadas com IL-4 e não irradiadas serviram como controle. Os experimentos foram realizados em duplicata. Os dados foram analisados usando o gene GAPDH como referência e submetidos a análise estatística utilizando-se o teste T não pareado com correção de Welch. **Resultados:** Houve um aumento significativo na expressão gênica do fator de crescimento *TGF β 1* ($p < 0,05$; *fold-regulation* 1,62) nos macrófagos tratados com IL-4 (indução fenótipo M2a) em relação aos do grupo controle. Por outro lado, os macrófagos tratados com IL-4 (M2a) e irradiados com LBI de 780 nm apresentaram uma diminuição significativa na expressão deste gene ($p > 0,05$, *fold-regulation* -1,88) em relação aos macrófagos tratados com IL-4, mas não irradiados. Apesar dos macrófagos tratados com IL-4 e irradiados com LBI de 660 nm apresentarem uma diminuição na expressão de *TGF β 1* ($p < 0,01$, *fold-regulation* -1,08) em relação aos tratados com IL-4, mas não irradiados, não houve diferença estatística significativa. **Conclusão:** A irradiação com LBI infravermelho de 780 nm foi capaz de reduzir a expressão gênica do fator de crescimento *TGF β 1* em macrófagos M2a. Estes resultados podem auxiliar a compreensão dos mecanismos envolvidos na diminuição da fibrose observada nos tecidos lesionados irradiados com LBI.

Apoio Financeiro: Processo FAPESP 2013/07502-1 e 2015/21219-6.

EFFECT OF WHOLE-BODY VIBRATION EXERCISES IN THE GAIT TEST OF INDIVIDUALS WITH METABOLIC SYNDROME

^{1,2}Sá-Caputo D.C.,^{2,3}Frederico E.H.F.F.,²Guedes-Aguiar E.,^{2,4}Dionello C.F.,²Farias, C.H.A.,^{2,5}Kutter C.R.,^{1,2}Moreira-Marconi E.,^{2,4}Soares-Morel D.,^{2,5}Carvalho-Lima R.P.,²Neves R.,^{2,4}Paineiras-Domingos L.L.,^{2,5}Sobrinho-Neto S.B.,²Jaña-Rosa A.,⁶Fritsch M.N.,⁶Oigman W.,²Bernardo-Filho M.

¹Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, Faculdade de Ciências Médicas (FCM).²Departamento de Biofísica e Biometria, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG).³Programa de Pós-Graduação em Biociências, IBRAG.⁴Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, FCM.⁵Mestrado Profissional em Saúde, Medicina Laboratorial e Tecnologia Forense, IBRAG.⁶Departamento de Clínica Médica, FCM, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Introduction: Metabolic syndrome (MS) is considered as a clinical disorder that is defined by interconnected physiological, biochemical, clinical and metabolic factors, such as alterations in the level of the lipids in the plasma, arterial hypertension, central adiposity, and insulin resistance and hyperglycemia that directly increase the cardiovascular risks, according the International Diabetes federation. The World Health Organization has suggested treatments non pharmacological as a possibility of management of the individuals with MS. The whole body vibration exercises (WBVE) are produced when the individuals are in contact with the base of the platform in operation. This kind of exercise has been studied with the aim of improving the health in several conditions.

Objective: The aim of this study was investigate the effect of the WBVE in the gait of the individuals with MS.

Methods: Twenty-two subjects with MS (61.95 ± 8.57 years, 81.03 ± 15.34 body mass, 1.58 ± 0.2 stature, 30.56 ± 5 BMI) were submitted to three sets (1 min each) of WBV exercise (5 Hz and peak-to-peak displacements of 2.5, 5.0 and 7.5 mm, corresponding to peak accelerations of 0.12, 0.25 and 0.35 g, respectively) sitting in a chair with the feet on the platform with knees flexed (130°), followed by 1 min of inter-set rest in the first session. From the second to the tenth session the individuals were positioned in the standing position on the base of the oscillating/vibratory platform, with knees flexed (130°). They were performed the same peak-to-peak displacements and the duration in each position as the first session. The frequencies were increased 1 Hz in each session and in the tenth session the frequency was 14 Hz. The time of the gait in the 3 meters was measured in the first session (before the WBVE) and in the tenth session (after the WBVE). CAAE 54981315.6.0000.5259.

Results: The time of the gait test of this individuals was significantly improved ($p = 0.03$). The value before the WBVE was 5.51 ± 2.5 seconds and after the WBVE was 4.85 ± 2.3 seconds. **Conclusion:** The gait in the 3 meters of the individuals with MS was improved with this protocol of WBVE.

Financial support: LAVIMPIC, UERJ, FAPERJ, CNPq.

ANÁLISE DA FUNCIONALIDADE DOS MEMBROS INFERIORES DE INDIVÍDUOS PORTADORES DE OSTEOARTITE DO JOELHO APÓS EXERCÍCIOS DE VIBRAÇÃO DE CORPO INTEIRO ATRAVÉS DO 5-CHAIR TEST

^{1,2}Moreira-Marconi E.,^{2,3}Kutter C.R.,^{2,3}Brandão-Sobrinho-Neto S.,²Rosa A.J.,^{2,4}Dionello C.F.,
^{2,4}Morel D.S.,^{1,2}Sá-Caputo D.C.,^{2,4}Souza-Gonçalves C.R.,^{2,5}Frederico E.H.F.F.,²Castelpoggi J.M.,
²Bernardo-Filho M.

¹Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental,²Laboratório de Vibrações Mecânicas e Práticas Integrativas e Complementares (LAVIMPIC), Departamento de Biofísica e Biometria,³Mestrado profissional em Saúde, Medicina Laboratorial e Tecnologia Forense,⁴Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas,⁵Programa de Pós Graduação em Biociências, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A osteoartrite do joelho (OAJ) é uma doença degenerativa da cartilagem articular e está associada ao envelhecimento. Sintomas como dor, rigidez, inchaço e deformidade articular fazem com que os portadores dessa doença apresentem piora da capacidade funcional. O exercício é recomendado pela *Osteoarthritis Research Society International* como tratamento não-farmacológico da OAJ, porém, muitas vezes, a limitação funcional gerada pelos sintomas da doença, impede o indivíduo de manter esse tipo de tratamento. Exercícios de vibração de corpo inteiro (EVCI) podem ser uma importante alternativa para essa população com OAJ. Os EVCI são produzidos quando a vibração gerada em plataforma oscilante/vibratória (POV) é transmitida para um indivíduo que está em contato com a sua base em funcionamento. Dentre os efeitos gerados por essas vibrações podem ser incluídos a melhora da força muscular, da flexibilidade, do equilíbrio, diminuição da dor. Este resultado pode estar associado a uma melhora na funcionalidade destes indivíduos. O *5-chair test* tem sido utilizado para analisar a funcionalidade dos membros inferiores em diferentes doenças crônicas, incluindo a OAJ.

Objetivos: Analisar a funcionalidade dos membros inferiores de indivíduos portadores de OAJ após EVCI através do *5-chair test*.

Material e métodos: Trabalho aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa em seres humanos do Hospital Universitário Pedro Ernesto - HUPE (CAAE 19826413.8.0000.5259). Todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes de qualquer procedimento. A POV usada nesse trabalho é do tipo alternado (Novaplate Fitness Evolution®, SP). Indivíduos com diagnóstico clínico de OAJ, de ambos os sexos (n=17) foram submetidos a 10 (dez) sessões de EVCI (duas sessões semanais). Todos os pacientes ficaram sentados em uma cadeira com as mãos apoiadas nos joelhos e com os pés descalços apoiados na base da POV em três deslocamentos pico a pico (2,5, 5,0 e 7,5 mm), permanecendo em cada posição por 3 min com 1 min de repouso entre elas. O tempo total de cada sessão foi de 11 minutos. A frequência utilizada foi de 5 Hz na primeira sessão, aumentando 1 Hz por sessão, chegando a última com 14 Hz. O *5-chair test* foi realizado antes do início do protocolo e após o término deste. O paciente inicia o teste sentado em uma cadeira, com os membros superiores cruzados a frente do tronco, o avaliador realiza um comando verbal para ele levantar e sentar o mais rápido possível por 5 vezes seguidos. O tempo de realização destes movimentos foi marcado através de um cronômetro. A análise estatística foi empregada (*Wilcoxon rank test* $p \leq 0,05$).

Resultados: Na execução do *5-chair test*, antes o tempo foi de $27,97 \pm 17,38$ segundos, e depois do tratamento, $22,25 \pm 8,97$ segundos. Foi obtida uma redução significativa ($p = 0,0312$). Este resultado mostrou uma melhora na funcionalidade dos membros inferiores destes indivíduos.

Conclusão: O tratamento de pacientes com OAJ com EVCI melhora a funcionalidade de membros inferiores desses indivíduos, pelo menos no *5-chair test*. Esse achado poderia estar relacionado com efeitos do EVCI, como diminuição de dor e aumento da força muscular.

Apoio Financeiro: CNPQ e FAPERJ

DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

SCIENTIFIC COMMUNICATION

RADIOFÁRMACOS E ENSINO MULTIDISCIPLINAR: DESENVOLVIMENTO DE COMPETÊNCIAS OU CUMPRIMENTO DA LEGISLAÇÃO?

¹Mota L.G., ^{1,2}Gontijo R.G., ³Degenhardt A.L., ^{3,*}Velasques de Oliveira S.M.

¹Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Minas Gerais. ²Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear (CDTN/CNEN), Minas Gerais. ³Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD/CNEN), Rio de Janeiro

*silviamvelasques@gmail.com

Introdução: Radioisótopos são produzidos em reatores nucleares ou cíclotrons. Para meia-vida física inferior a 120 min (¹⁸F e ¹¹C), são produzidos em cíclotrons de instituições públicas ou privadas. Para meia-vida superior a 120 min aplica-se o regime de monopólio da União e, por essa razão, operadores de cíclotrons ou reatores são servidores públicos concursados. As atividades de irradiação de alvos, desenvolvimento de moléculas e técnicas de marcações químicas, implantação de boas práticas de fabricação, estudos de biodistribuição através de ensaios pré-clínicos e clínicos e, finalmente, registro do medicamento [1] exigem profissionais (engenheiros, químicos, físicos, farmacêuticos, biomédicos, biólogos e tecnólogos) especializados. Para a autorização para operação de instalações produtoras (cíclotrons), a CNEN exige supervisor de radioproteção (SPR) em aceleradores lineares e radiofarmácia [2] e para a autorização de operação de serviços de medicina nuclear (SMN) [3] responsável legal; responsável técnico; SPR [4] e profissionais de nível superior registrados [5]. Por competência concorrente, a ANVISA exige profissionais graduados responsáveis pela preparação e administração de radiofármacos [6]. Para controle de qualidade de equipamentos de aquisição de imagens, é exigido pela CNEN especialista em física médica com título outorgado por instituição ou associação de referência nacional [3]. A profissão de físico ou físico médico ainda não é regulamentada, mas os conselhos de Farmácia [7], Biomedicina [8] e de Técnicos e Tecnólogos em Radiologia [9] têm resoluções sobre o exercício profissional nas instalações autorizadas por CNEN e ANVISA. A disponibilidade de recursos humanos qualificados é o fator mais importante para assegurar o cumprimento do marco regulatório.

Objetivos: O trabalho visa colocar em perspectiva as exigências regulatórias em relação a recursos humanos e a disponibilidade de sua formação em áreas multidisciplinares para o atendimento da demanda de pesquisas, produção e uso de radiofármacos.

Material e método: Foram pesquisados em bancos de dados oficiais informações sobre instalações produtoras e operadoras de radiofármacos autorizadas pela CNEN [10], cursos de Farmácia, Biomedicina e Tecnologia em Radiologia cadastrados no Ministério da Educação [11], cursos de pós-graduação em Farmácia, Biotecnologia, Física e Ciências Biológicas (Farmacologia e Biofísica) cadastrados na Plataforma Sucupira [12], grupos de pesquisas e pesquisadores cadastrados no Diretório dos Grupos de Pesquisas do CNPq [13].

Resultados: Em 12 cíclotrons (dos quais 50% localizados na região Sudeste), 6 têm equipamentos híbridos para ensaios pré-clínicos e há 11 SPR credenciados. Em 222 laboratórios de pesquisas, há 433 pesquisadores registrados para manipular material radioativo, a maioria em Ciências Biológicas e da Saúde. Há 406 SMN (80% privados e 55% no Sudeste) e 307 profissionais certificados como SPR para SMN [10]. Por cursos de graduação, 916 cursos de Farmácia (498), Biomedicina (283) e Tecnologia em Radiologia (135), apenas 43 ofertam a disciplina Radiofarmácia em sua grade curricular (28 para farmacêuticos, 9 para tecnólogos de Radiologia e 6 para biomédicos), a maioria como disciplina optativa [11]. Por cursos de pós-graduação, há 203 cursos em Farmácia, Física, e Biotecnologia, localizados na região Sudeste (43%), Nordeste (22%), Sul (20%), Norte (9%) e Centro-Oeste (6%). Os cursos de pós-graduação em Ciências Biológicas (Biofísica e Farmacologia) são 100% localizados no Sudeste [12]. No país, atuam 17 Grupos de Pesquisas (GP) em Radiobiologia e 17 GP em Radiofármacos com 48 e 37 Linhas de Pesquisa (LP), respectivamente. Há 42 GPs em Radioproteção com 48 LPs em Radiologia ou Radioterapia. Por áreas, as LPs em Radiofármacos,

Radiobiologia e Radioproteção estão classificadas em Ciências Biológicas (28), Ciências da Saúde (12) e Engenharia Nuclear ou Física Nuclear (8).

Conclusões: Recomendamos (i) revisar o currículo de Ciências da Natureza do ensino médio para mostrar as aplicações de radioisótopos ponderando riscos *versus* benefícios; (ii) incluir a disciplina de Radiofarmácia nos cursos de graduação em Farmácia e Biomedicina; (iii) harmonizar programas de pós-graduação multidisciplinares e residências multiprofissionais e melhorar sua distribuição regional; (iv) oferecer cursos de atualização para auditores e integrantes de comitês de ética em pesquisas que analisam projetos de estudos pré-clínicos e ensaios clínicos.

Referências bibliográficas:

- [1] ANVISA. Requisitos para registro de radiofármacos. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n° 63, ANVISA, Brasília, DF, 2009.
- [2] CNEN. Licenciamento de Instalações Radiativas. Norma CNEN 6.02, Resolução n° 166/14, Rio de Janeiro, Abril de 2014.
- [3] CNEN. Requisitos de segurança e proteção radiológica para serviços de medicina nuclear. Norma CNEN 3.05, Resolução n° 159/13, Rio de Janeiro, Dezembro, de 2013.
- [4] CNEN. Certificação da qualificação de supervisores de proteção radiológica. Norma CNEN NN 7.01, Resolução CNEN n° 194/16, Rio de Janeiro, Maio de 2016
- [5] CNEN. Requisitos para o registro de pessoas físicas para o preparo, uso e manuseio de fontes radioativas. Norma CNEN NN 6.01. Resolução CNEN 005/99, Rio de Janeiro, Março de 1999.
- [6] ANVISA. Requisitos para instalação e funcionamento de SMN. Resolução 38 de 4/6/2008, Brasília, DF, 2008.
- [7] Conselho Federal de Farmácia (CFF). Resolução 486 de 23/9/2008. Dispõe sobre as atribuições do farmacêutico.
- [8] Conselho Federal de Biomedicina (CFB). Resolução 234 de 5/12/2013. Dispõe sobre atribuições do biomédico.
- [9] Conselho Federal de Radiologia (CONTER), Resolução de 4/5/2012. Dispõe sobre atribuições tecnólogo de radiologia.
- [10] CNEN. Comissão Nacional de Energia Nuclear. Instalações Autorizadas. Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <<http://www.cnen.gov.br/instalacoes-autorizadas>> Acesso em Maio de 2016.
- [11] E-MEC. Ministério da Educação. Instituições de Ensino Superior e Cursos Cadastrados. Brasil, 2014. Disponível em: <<http://emec.mec.gov.br/>> Acesso em Agosto de 2014.
- [12] SUCUPIRA. Plataforma Sucupira. Dados Quantitativos de Programas Recomendados e Reconhecidos. CAPES, Brasil, 2016. Disponível em: <<https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/>> Acesso em Maio de 2016.
- [13] CNPq. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Brasil, 2016. Disponível em: <<http://cnpq.br/>> Acesso em Maio de 2016.

Apoio financeiro: CNPq.

RADIOFÁRMACOS E O IMPACTO DA OPINIÃO PÚBLICA SOBRE AS PROPOSTAS DOS LEGISLADORES

^{1,*}Velasques de Oliveira S.M., ²Soares E.O., ³Gontijo R.G., ¹Degenhardt A.L., ³Mota L.G.

¹Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD/CNEN). ²Faculdade de Direito, Programa de Pós-Graduação em Direito Ambiental, Pontifícia Universidade Católica (PUC-RJ). ³Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

*silviamvelasques@gmail.com

Introdução: Radiofármacos são preparações farmacêuticas com radionuclídeos produzidos em reatores nucleares ou aceleradores de partículas (ciclotrons). A Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) [1] fiscaliza instalações nucleares [2] e radiativas [3] e exerce o regime do monopólio nuclear [4]. Esse monopólio foi parcialmente quebrado para a produção de radionuclídeos de meia-vida física inferior a 120 min (Fluor-18 e Carbono-11) [5]. Entretanto, essa providência não supriu a demanda de radionuclídeos no país, porque os radionuclídeos mais usados dependem de importação (Tecnécio-99m), produção em reator (Iodo-131 e Samário-153) ou ciclotrons (Gálio-67 e Talio-201). O licenciamento ambiental das instalações produtoras é atribuição do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) [6]. A partir de 2009, a Agência Nacional de Saúde (ANVISA) passou a regulamentar a produção dos radiofármacos [7]. Antes de solicitar registro de radiofármacos novos ou inovadores, devem ser realizados ensaios pré-clínicos e clínicos [8]. Os ensaios clínicos devem ser submetidos à anuência prévia da ANVISA [9]. A experimentação animal é regulada pelo Conselho Nacional de Saúde (CNS) que criou o Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) [10]. As pesquisas com seres humanos são aprovadas pelos Comitês de Ética na Pesquisa (CEP) locais, subordinados ao Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) [11] e com autonomia para aprovar a maioria dos protocolos de pesquisa. Os casos especiais podem ser analisados pelo CONEP visando harmonizar e vigiar a isenção dos processos. Desde 2007, diversos projetos legislativos propõem alterações significativas no marco regulatório e podem impactar nas atividades de pesquisas e produção de radiofármacos.

Objetivo: Avaliação do impacto dos projetos legislativos com possível impacto em pesquisas com de radiofármacos.

Método: Busca de projetos de lei nos sites do Senado Federal

(<http://www25.senado.leg.br/web/atividade/materias>) e Câmara Federal

(<http://www.camara.leg.br/buscaProposicoesWeb/pesquisaSimplificada>).

Resultados: O Projeto de Lei (PLS) 200/2015 propôs alterações que, na prática, significam eliminar o CONEP e o controle social sobre as pesquisas com o argumento de agilizar as pesquisas. Em relação a ensaios pré-clínicos, as pressões das sociedades protetoras dos animais implicou na criação de Comissão Parlamentar de Inquérito (CPI) sobre “maus-tratos de animais” cujo relatório final propôs projeto de lei para extinguir as atribuições do CONCEA e dificultar pesquisas com animais de laboratório. Na área nuclear, o Projeto de Emenda Constitucional (PEC) 100/2007, o qual propõe excluir do monopólio da União produção e comercialização de radioisótopos, foi votado e aprovado no Senado Federal em 3/8/2010. A PEC 122/2007 propõe excluir do monopólio da União a construção e operação de reatores nucleares para fins de geração de energia elétrica e, em 4/7/2011, teve apensada a PEC 41/2011, para vedar a construção e instalação de novas usinas que operem com reator nuclear no país mas permitir as atividades das usinas já existentes e em construção. A PLS 405/2011 propõe suspender, pelo prazo de trinta anos, a construção de novas usinas term nucleares em território nacional. A PEC 158/2015 condiciona a instalação de usinas nucleares à aprovação do Estado diretamente afetado. Os projetos são listados na Tabela 1.

Conclusões: Os reatores para produção de radioisótopos usam urânio enriquecido e geram rejeitos radioativos. É possível que, devido às dificuldades de entendimento sobre a base científica e diferentes modelos de reatores nucleares, os legisladores se confundam. Pode-se adotar medidas como

divulgação científica, inclusive para professores de Ciências. As sociedades protetoras dos animais e a indústria farmacêutica, respectivamente, podem inviabilizar ensaios pré-clínicos. As sociedades científicas, dentre as quais a SBBN [12], [13], tem se mobilizado para esclarecer a opinião pública sobre a experimentação animal, mas ainda há falta de compreensão pelos legisladores.

Referências bibliográficas:

- [1] BRASIL. Lei 4.118 de 27/08/1962.
- [2] Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Licenciamento de instalações nucleares. Resolução 15/02, 2002. Norma CNEN NE 1.04, Resolução CNEN 15/02, Dezembro / 2002.
- [3] Comissão Nacional de Energia Nuclear. Licenciamento de Instalações Radiativas. Norma CNEN 6.02, Resolução nº 166/14, Rio de Janeiro, Abril de 2014.
- [4] BRASIL, Constituição Federal, 1988.
- [5] BRASIL. Emenda Constitucional n. 49, 2006. Alterou o inciso XXIII do art. 21, alíneas b e c, e o inciso V do caput do art. 177 da Constituição Federal.
- [6] CONAMA 237, Art. 4 inciso 4, 1997.
- [7] Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Requisitos para registro de radiofármacos. RDC nº 63, ANVISA, Brasília, DF, 2009.
- [8] Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC nº 210, 2003. Regulamento técnico das boas práticas para a fabricação de medicamentos, ANVISA, Brasília, DF, 2003.
- [9] Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento para realização de pesquisa clínica. RDC nº39, ANVISA, Brasília, DF, 2008.
- [10] BRASIL. Lei 11.794. Cria Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA)
- [11] Conselho Nacional de Saúde (CNS). Resolução 466/2012. Cria o Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).
- [12] Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares (SBBN). Manifesto da SBBN sobre a importância da experimentação animal para o desenvolvimento de radiofármacos para diagnóstico e terapias no Brasil. *Jornal da Ciência on line*, nº 4847 de 1/11/2013, São Paulo, 2013.
- [13] Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares (SBBN). Manifesto sobre a importância da experimentação animal em pesquisas com radiações para melhorar a saúde no Brasil. *Jornal da Ciência on line*, nº de 9/12/2015, São Paulo, 2015.

Apoio financeiro: CNPq

Tabela 1. Projetos legislativos em tramitação

Projeto	Ano	Objetivos
PEC100	2007	Exclui do monopólio da União a produção de radiofármacos
PEC122	2007	Exclui do monopólio a construção e operação de usinas nucleares
PLS405	2011	Suspensão da construção de usinas nucleares por 30 anos
PEC 158	2015	Condiciona a instalação de usinas nucleares à aprovação do Estado diretamente afetado
PLS200	2015	Alteração atribuições do CONEP
CPI/PLS	2016	Alteração atribuições do CONCEA

ARTIGOS COMPLETOS

FULL ARTICLES

EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DE LEISHMANIOSE CUTÂNEA EM UM MODELO MURINO

Fernanda Viana Cabral¹, Camila Ramos Silva¹, Ismael Pretto Sauter², Caetano Padial Sabino¹, Tania Mateus Yoshimura¹, Mauro Cortez² e Martha Simões Ribeiro^{1*}

¹Laboratório de Terapia Óptica – Centro de Lasers e Aplicações, IPEN-CNEN/SP

²Laboratório de Imunobiologia da Interação *Leishmania*-Macrófagos, ICB/USP

*Av. Lineu Prestes, 2242- 04809-270- Cidade Universitária- SP-BR, + 55 11 3133-9197

E-mail: marthasr@usp.br

Resumo

Leishmanioses são doenças parasitárias desenvolvidas por protozoários do gênero *Leishmania*. A forma cutânea abrange lesões destrutivas e ulceradas com diversas limitações no tratamento. Terapias alternativas são fundamentais devido à grande relevância da doença e elevada incidência. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica (PDT) tem sido introduzida devido ao baixo custo, baixa toxicidade, praticidade e sem relatos de resistência na literatura. Neste trabalho, dezesseis camundongos BALB/c foram infectados com 1.10^6 parasitos de *Leishmania (L) amazonensis* no membro posterior esquerdo e acompanhados por 4 semanas até o surgimento da lesão. Após esse período, os animais foram submetidos à PDT usando um diodo emissor de luz ($\lambda=660 \pm 22$ nm) e azul de metileno (100 μ M), com fluências de 50, 100 e 150 J/cm² e acompanhados durante 3 semanas. Animais controle não receberam tratamento. O tamanho da lesão e escala de dor foram mensurados utilizando um paquímetro e filamentos von Frey, respectivamente. A quantificação da carga parasitária foi realizada através do método de diluição limitante. Os resultados demonstraram que, nas semanas 2 e 3 após tratamento, ocorreu diminuição da lesão e alívio de dor nos animais que receberam 150 J/cm², sugerindo que a PDT promoveu melhora clínica através da modulação do processo inflamatório.

Palavras-chave: LED de emissão vermelha, azul de metileno, *Leishmania amazonensis*, ensaio pré-clínico

Abstract

Leishmaniasis is a chronic disease developed by prozotoa parasites of genus *Leishmania*. Cutaneous leishmaniasis has several different forms including destructive and ulcerated lesions. The current available treatments are limited because of side effects and toxicity. Photodynamic therapy (PDT) has been studied as an alternative treatment for this disease, once it is less expensive and no reports about resistance have been described. In the present study, sixteen BALB/c mice were infected in the left footpad with 1.10^6 parasites of *Leishmania (L) amazonensis* specie. They were observed for 4 weeks until lesion appearance. After that, the animals were divided into 3 groups with different fluences (50, 100 e 150 J/cm²) and control (infected and non-treated). PDT was performed using a light-emitting diode ($\lambda=660 \pm 22$ nm) and methylene blue (100 μ M). After treatment, animals were observed for 3 weeks and lesion size, hyperalgesia with von Frey filaments and parasite burden through limited dilution were measured. Our results showed lesion reduction and pain relief for animals that received 150 J/cm² on 2 and 3 weeks after PDT, suggesting that PDT promoted clinical improvement by modulation of the inflammatory process.

Keywords: methylene blue, red LED, *Leishmania amazonensis*, pre-clinical trial

1. INTRODUÇÃO

Leishmanioses caracterizam-se por enfermidades infecto-parasitárias, desenvolvidas por protozoários de diferentes espécies do gênero *Leishmania* e subgêneros *Leishmania* e *Viannia*. Trata-se de uma antroponose de ciclo biológico heteroxênico, apresentando um inseto vetor, cujo interior habitam as formas promastigotas do parasito, responsável pela transmissão da doença a hospedeiros vertebrados, essencialmente mamíferos, como roedores, marsupiais, animais domésticos e seres humanos (Rogers and Bates, 2007). Nessas, as formas amastigotas do parasito se inserem no sistema mononuclear fagocitário, preferencialmente, macrófagos (Sacks and Kamhawi, 2001).

A leishmaniose visceral e leishmaniose tegumentar americana (LTA) são as duas principais manifestações clínicas desenvolvidas pelo parasito e apresentam sintomatologia bastante distinta (Ribeiro-Gomes and Sacks, 2012; WHO, 2016). A leishmaniose visceral destaca-se por sua extrema gravidade devido ao tropismo do protozoário por órgãos como baço, fígado e medula óssea, com intensa prostração do hospedeiro e elevado índice de letalidade. A LTA possui quatro principais formas clínicas, conhecidas como localizada, disseminada, difusa e mucocutânea ou cutâneo-mucosa (Sacks and Perkins, 1984; Desjeux, 2004). Caracterizam-se por lesões dermatológicas, cuja progressão relaciona-se com a espécie do parasito e resposta imunológica do hospedeiro. Abrange lesões destrutivas, edemaciadas, supurativas, com tecido granulocítico e ulcerado, possibilitando o desenvolvimento de infecções secundárias, cujos aspectos, de caráter desfigurante, podem proporcionar transtornos psicológicos em seres humanos acometidos. Nas formas mais graves, a LTA pode ocasionar óbito do hospedeiro (Sacks and Perkins, 1984).

O surgimento de novas pesquisas relacionadas ao tratamento se faz fundamental atualmente, uma vez que as leishmanioses são doenças com grande relevância, não somente pela sua elevada incidência, mas pela dificuldade dos tratamentos disponíveis, os quais apresentam diversas limitações, que variam desde o alto custo, com índices de toxicidade bastante proeminentes, baixa aderência do paciente ao tratamento, que depende de múltiplas injeções intravenosas, por vários dias consecutivos, e também pela resistência do parasito aos fármacos disponíveis (McGwire and Satoskar, 2014).

Nesse contexto, o surgimento de novas terapias alternativas vem sendo estudado com a finalidade de propiciar eficácia adequada, preservação da integridade física do paciente e acessibilidade financeira, já que as principais regiões endêmicas apresentam baixa infraestrutura e poucos recursos (McGwire and Satoskar, 2014). Dessa forma, a terapia fotodinâmica (PDT, do inglês *Photodynamic Therapy*) tem sido introduzida no campo da pesquisa como uma possibilidade terapêutica interessante no tratamento de LTA, uma vez que sua administração é tópica e, portanto, o método é pouco invasivo (Dai *et al.*, 2009). Além disso, o custo é reduzido, a toxicidade baixa e não existem relatos de indução de resistência descrito na literatura, o que torna a técnica bastante vantajosa na terapêutica (Hamblin and Hasan, 2004; Hamblin, 2016).

A PDT consiste na combinação de três componentes principais: fotossensibilizador (FS), oxigênio molecular e luz com comprimento de onda ressonante à absorção do FS. Ao absorver um fóton, o FS é promovido a um estado excitado no qual poderá promover reações fotoquímicas que levam a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO, e.g., radical hidroxila, ânion superóxido, oxigênio singlete). As ERO são capazes de danificar biomoléculas de importância central nas células-alvo promovendo morte celular por estresse oxidativo (Hamblin and Hasan, 2004; Kharkwal *et al.*, 2011; Wan e Lin, 2014).

Apesar de ser um problema de saúde pública, sabe-se que as leishmanioses são doenças negligenciadas (WHO, 2016). Portanto, considerando a importância do tema, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da PDT em LTA induzida em modelo murino com 3 diferentes fluências, através da quantificação da carga parasitária, evolução do tamanho das lesões e hipersensibilidade nociceptiva (alodínea).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Terapia Óptica e todos os procedimentos experimentais seguiram as normas vigentes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram submetidos à aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA 70/10) do IPEN-CNEN-SP. Os animais receberam ração granulada e água *ad libitum* e foram mantidos em ambiente controlado no biotério, sem a possibilidade de contato com insetos vetores.

2.1. Cultivo de Leishmania

Culturas de *L.(L.)amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8) foram mantidas como promastigotas a 25°C em 5 mL de meio Grace's (Vitrocell) suplementado com 10 % de soro fetal bovino inativado (Gibco), em garrafas de cultura de 25 cm². Para manutenção da cultura (máximo sete passagens) foram realizados repiques semanais em que aproximadamente 5.10⁵ parasitos foram adicionados em 5 mL do meio. Para a realização da curva de crescimento, os parasitos foram fixados em 4 % de paraformaldeído e contados em câmara de Neubauer durante sete dias (Latorre-Esteves et al., 2010; Coelho et al., 2016)

2.2. Inoculação do Parasita

No ensaio de infecção *in vivo* foram utilizados 16 camundongos BALB/c (fêmeas, 8 semanas, aproximadamente 30 g). A indução de LTA foi realizada através da administração de um inóculo de promastigotas de fase estacionária com 1.10⁶ parasitos, em um volume de 20 µL, obtidos no sétimo dia de cultura. O inóculo foi administrado por via subcutânea, na porção superior do membro posterior esquerdo de cada animal. O monitoramento da lesão foi realizado durante 4 semanas. A altura de ambos os membros de cada animal foi mensurada com um paquímetro semanalmente (Latorre-Esteves et al., 2010; Coelho et al., 2016). Os animais foram divididos em grupos para realização do tratamento (tabela 1).

TABELA 1- Distribuição dos grupos experimentais e dos parâmetros utilizados na PDT

Grupo	Fluência (J/cm ²)	Tempo de Irradiação (s)	Número de Animais
Controle	0	0	4
PDT50	50	500	4
PDT100	100	1000	4
PDT150	150	1500	4

2.3. Terapia Fotodinâmica (PDT)

Após 4 semanas de indução da infecção, a PDT foi administrada utilizando-se azul de metileno (AM) como fotossensibilizador. O AM foi inoculado por via subcutânea no membro infectado na concentração de 100 µM, em um volume de 10 µL. O tempo de pré-irradiação foi de 10 min. Em seguida, as lesões foram irradiadas com um LED emitindo em $\lambda=660 \pm 22\text{nm}$, com irradiância de 100 mW/cm², área do feixe equivalente a 1cm² e densidades de energia conforme mostra a tabela 1 (Latorre-Esteves et al., 2010). Todas as etapas do tratamento foram realizadas com os animais devidamente anestesiados por via intraperitoneal com coquetel de quetamina (90 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) seguindo os padrões e princípios éticos do CEUA (Latorre-Esteves et al., 2010). Os animais foram acompanhados durante 3 semanas.

2.4. Quantificação da Lesão

O progresso da lesão foi avaliado com um paquímetro. A altura de ambos os membros de todos os animais foi mensurada. Para estimar o real tamanho da lesão, foi medida a diferença

relativa dos valores obtidos, em porcentagem, através da fórmula:

$$\text{Diferença Relativa (\%)} = (\text{Pi}-\text{Pc}/\text{Média Pc}) \times 100$$

Onde, Pi relaciona-se à pata infectada e Pc à pata contralateral, não infectada, do mesmo animal (Maspi et al., 2016).

2.5. Quantificação da carga parasitária

Após PDT, os animais foram imediatamente eutanasiados para a quantificação da carga parasitária. O tecido da lesão no membro infectado foi removido e as lesões foram lavadas 3 vezes em álcool 70% por 10 min e maceradas em homogeneizador de tecidos com meio RPMI. O conteúdo foi filtrado em filtro de 70 µm, centrifugado a 1300 g por 10 min e ressuspendidos em 1 mL de meio RPMI (Reimao et al., 2013).

Placas de 96 poços foram semeadas previamente com meio de cultura M199. No primeiro poço foi adicionado o macerado da lesão e foi feita a diluição seriada com fator de diluição 10 até o último poço. A placa foi incubada a 25° C por 7 dias para a confirmação da presença de promastigotas. A quantificação foi realizada utilizando-se o programa ELIDA (ELIDA software Carl Tarswel) (Reimao et al., 2013).

2.6. Avaliação da dor

A avaliação da dor foi determinada pelo método von Frey, que possibilita analisar a hipersensibilidade nociceptiva frente a um estímulo mecânico, com uma força expressa em gramas. Os filamentos utilizados foram de 10, 15, 26, 60 e 100 gramas (Young et al., 2016). As medidas foram realizadas no dia da PDT (semana 0) e após 3 semanas de tratamento. Foi desenvolvida uma escala de dor com base nos resultados obtidos, em que 1 representa grande sensibilidade e 6 pouca sensibilidade do animal de acordo com a tabela 2.

TABELA 2- Escala de dor e suas representações utilizando o método von Frey

Escala de Dor	Força Expressa em gramas (g)
1	<10
2	10-15
3	15-26
4	26-60
5	60-100
6	>100

2.7. Análise Estatística

Os resultados são apresentados em média ± EPM (erro padrão da média). Para análise comparativa utilizamos o teste ANOVA two-way com medidas repetidas e Tukey como pós-teste. As análises foram realizadas no software GaphPad Prisma 6.0. Os dados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Tamanho da lesão

Nossos resultados demonstraram que o perfil infectivo, *in vivo*, foi semelhante em todos os grupos, uma vez que na quarta semana de infecção e início da PDT, a espessura da pata permaneceu homogênea em todos os grupos. A figura 1 mostra imagens representativas do aspecto clínico das lesões para todos os grupos 3 semanas após tratamento. Note que as lesões controle e 50 J/cm²

apresentam-se edemaciadas e com áreas de necrose. Para as maiores doses de PDT observa-se um edema mais brando, sendo que a dose de 150 J/cm² mostrou o melhor aspecto clínico, sem áreas de necrose. De fato, após 2 semanas de tratamento, observa-se que o grupo que recebeu 150 J/cm² reduziu significativamente o tamanho da lesão, mantendo seu tamanho significativamente menor até a 3^a semana (figura 2).



Figura 1. Aspecto clínico de infecção *in vivo* em camundongo BALB/c com isolados de *L. (L.) amazonensis*. O progresso da lesão foi acompanhado semanalmente, durante 3 semanas após a PDT. A primeira imagem representa um camundongo do grupo controle, com 7 semanas de infecção, sem tratamento. As imagens subsequentes indicam animais com 7 semanas de infecção e 3 semanas após a PDT, nas respectivas doses de cada grupo.

Na primeira semana após a PDT, os grupos experimentais apresentaram resultados semelhantes, com exceção do grupo PDT 150 J/cm² (142,25 ± 11,55 %), que apresentou uma diferença média inferior ao grupo controle (168,75 ± 7,55 %), mas não significativa. Nas semanas 2 e 3 pós-tratamento, essa diferença acentuou, uma vez que o grupo controle aumentou a diferença relativa em aproximadamente 293 % em relação a semana 0 (figura 2).

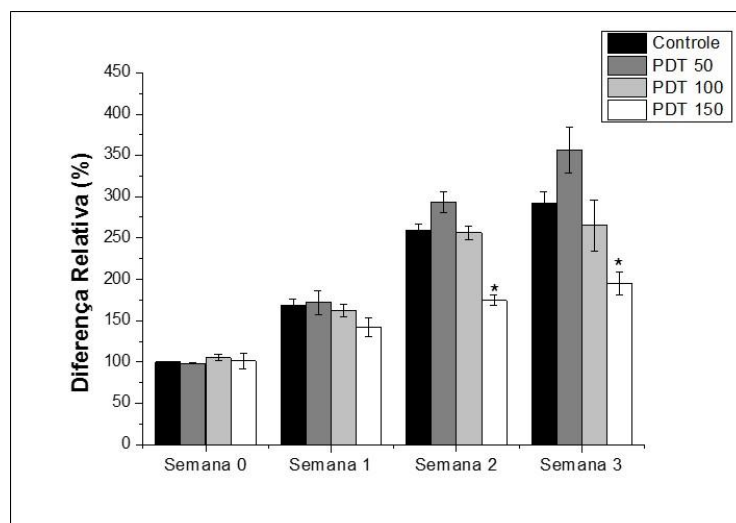


FIGURA2. Diferença relativa da espessura de patas de camundongos BALB/c infectadas com *Leishmania(L) amazonensis*. O gráfico representa a média de diferença relativa entre pata infectada e não infectada da espessura da lesão ± EPM para cada grupo (n=4) no respectivo período experimental. O sinal * indica diferença estatística significativa em relação ao grupo controle de cada período experimental.

3.2. Quantificação da carga parasitária

A quantificação de parasitas foi obtida 3 semanas após a PDT e é mostrada na figura 3. Nenhuma diferença estatística significativa foi observada entre os grupos. Entretanto, foi observado que a carga parasitária dos grupos PDT 100 e PDT150 tiveram uma redução média de cerca de 25 % e 50 %, respectivamente, em relação ao controle.

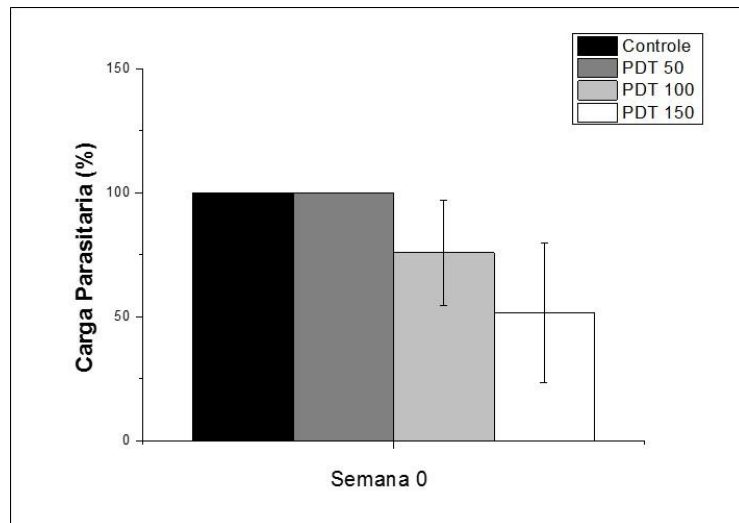


FIGURA 3. Quantificação da carga parasitária através do método de diluição limitante em camundongos BALB/c infectados com *Leishmania (L) amazonensis*. O gráfico representa a média \pm EPM para cada grupo (n=4) logo após a PDT (semana 0).

3.3. Escala de dor

A Figura 4 apresenta os dados referentes à hiperalgesia das patas infeccionadas dos animais experimentais. Os camundongos que receberam a dose de 100 J/cm² obtiveram, na semana 3, um valor inferior e significativo em relação ao controle (4,25 \pm 0,188) com uma redução de 25 % da sensibilidade ao estímulo doloroso.

Observa-se que após o tratamento, a maior fluência (150 J/cm²) promoveu redução significativa da dor comparada aos demais grupos. Esses resultados apresentaram diferença significativa em relação ao controle nas semanas 2 (4,25 \pm 0,188) e 3 (1,25 \pm 0,188). Após 3 semanas de tratamento, as doses de 100 J/cm² e 150 J/cm² diminuíram significativamente a dor associada à LTA. Nesse período, o grupo PDT150 apresentou uma redução de aproximadamente 75% à sensibilidade nociceptiva, quando comparada ao controle e ao grupo PDT50.

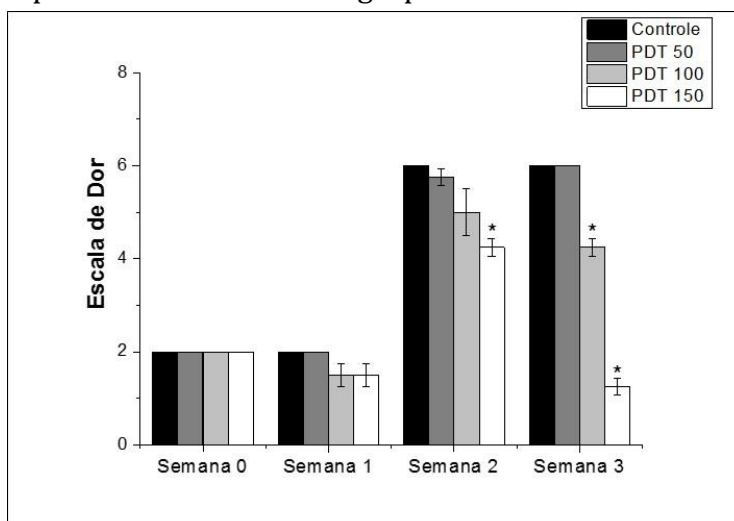


FIGURA 4- Escala de dor utilizando o método von Frey em camundongos BALB/c infectados com *Leishmania (L) amazonensis*. O gráfico representa a média \pm EPM para cada grupo (n=4) em seus respectivos dias experimentais. O símbolo * representa diferença significativa em relação ao grupo controle em cada período experimental.

4. DISCUSSÃO

Neste trabalho, utilizamos a terapia fotodinâmica para avaliar sua resposta em LTA induzida em camundongos BALB/c. Esta linhagem de camundongos foi escolhida por apresentar uma resposta imune celular (i.e., envolvendo resposta Th1) pouco eficaz contra LTA, sendo assim considerada um bom modelo para estudo de leishmaniose tegumentar americana originada pela espécie *L. (L.) amazonensis*. O avanço das lesões nesses animais pode ser tão intenso, que culmina com a amputação do membro em função do tempo de infecção (Akilov et al., 2007).

A escolha do modelo experimental é um fator essencial, pois deve reproduzir da melhor maneira possível as condições a serem analisadas. Nessa linhagem, há predominância da resposta imune do tipo Th2, que se relaciona com a evolução da enfermidade, pois promove elevação dos níveis de IL-4, IL5 e IL-10, enquanto na resposta imune do tipo Th1 prevalecem citocinas como IFN- e IL-12, responsáveis pela cura e proteção contra reinfecções, prevalente nas linhagens de camundongos C57BL/6 (Felizardo et al., 2012; Sassi et al., 2015). Portanto, de acordo com a cepa, espécie do protozoário e linhagem do hospedeiro, é possível desenvolver modelos de susceptibilidade ou resistência em camundongos (Akilov et al., 2007).

A linhagem BALB/c geralmente é escolhida como modelo experimental, uma vez que sua resposta imunológica capaz de causar danos letais ao parasito é ineficiente. Sendo assim, estudos relacionados à terapia e farmacologia de medicamentos são bastante eficazes. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica foi administrada, a fim de analisar a eficiência de sua resposta nesses animais, já que é uma técnica de aplicação tópica e, portanto, minimamente invasiva (Akilov et al., 2007; Akilov et al., 2009).

Trabalhos relacionados ao tratamento de LTA com PDT têm sido descritos na literatura com a utilização de diferentes fotossensibilizadores e variados parâmetros da luz (Hamblin e Hasan, 2004; Akilov et al., 2009; Latorre-Esteves et al., 2010; Peloi et al., 2011). Akilov e colaboradores demonstraram que as propriedades dos fotossensibilizadores também apresentam grande relevância na terapêutica da LTA (Akilov et al., 2006). Os autores apontaram que as fenotiazinas, por apresentarem carga catiônica em soluções aquosas e características anfífilas, são capazes de promover maior interação com as células dos parasitas do gênero *Leishmania* (negativamente carregadas), quando comparadas aos fotossensibilizadores aniônicos ou hidrofóbicos (Akilov et al., 2006). O uso do azul de metileno é bastante favorável em LTA, pois, além de ser um FS catiônico anfífilo, é desprovido de efeitos tóxicos aos hospedeiros (desde que esteja nas concentrações adequadas), seu custo é baixo, além de ser um fármaco propenso à formação de ROS (Peloi et al., 2011; Nunez et al., 2014).

A fluência entregue, aliada ao FS, influencia de maneira relevante na eficácia da terapia fotodinâmica. Entretanto, os relatos da literatura referenciam muitos estudos de PDT em LTA, com diferentes densidades de energia, dificultando o estabelecimento de um protocolo em PDT para aplicação clínica (Akilov et al., 2007). Por exemplo, Akilov e colaboradores observaram que com o uso de uma fenotiazina (3,7-bis(di-n-butylamino)phenothiazin-5-ium bromide) associada a um LED emitindo em $\lambda=660 \text{ 30 nm}$, na dose de 50 J/cm^2 , em camundongos BALB/c infectados no pavilhão auricular, houve uma remissão da lesão, com diminuição significativa da carga parasitária e melhora no processo inflamatório, com apenas uma sessão de PDT (Akilov et al., 2009). Nossos dados demonstram que, com a mesma densidade de energia e outro composto fenotiazínico (azul de metileno), com apenas uma sessão, não obtivemos redução da carga parasitária da lesão. Entretanto, com 150 J/cm^2 , os resultados foram promissores tanto clinicamente como em relação à sensibilidade nociceptiva. Devemos considerar que o modelo de infecção e a espécie do protozoário foram distintas daquelas utilizadas em nosso estudo, o que pode justificar parte da variabilidade entre nossos resultados.

O modelo animal, local de infecção, número de sessões, tempo de tratamento e momento de iniciá-lo, são variáveis fundamentais a serem consideradas, pois também interferem na

progressão ou remissão da doença nos modelos *in vivo*, solidificando a hipótese de que a implementação de um tratamento protocolado de PDT para LTA é uma tarefa difícil de se estabelecer.

Relatos da literatura apontam que infecções causadas por leishmaniose cutânea não apresentam dor (Kanaan et al., 2000; Karam et al., 2007; Borghi et al., 2016). Grevelink e Lerner reportaram que camundongos infectados com *L. (L.) major* possuem uma lesão em pápula eritematosa no período inicial, que evoluem para lesões nodulares e ulceradas, não dolorosas (Grevelink and Lerner, 1996). Porém, nos animais utilizados nesse experimento, constatamos forte presença de hiperalgesia, que aumentou constantemente em conjunto com a evolução da lesão. Contudo, nos animais submetidos à PDT, na dose de 100 J/cm² e 150 J/cm², houve diminuição significativa da hiperalgesia local.

Kanaan e colaboradores demonstraram que camundongos BALB/c infectados com a mesma espécie exibem evidências de nocicepção quando submetidos a testes de hiperalgesia, como o teste de placa quente (Kanaan et al., 2000). O trabalho sugere que esses estímulos ocorrem pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias, especialmente IL-1, conhecida por produzir efeitos nociceptivos, o que foi confirmado por Karam e colaboradores (Karam et al., 2006; Karam et al., 2007).

Nossos resultados em relação à hiperalgia, aliados à melhora clínica observada, sugerem que os efeitos benéficos da PDT podem ter ocorrido através da modulação do processo inflamatório, além do estresse oxidativo frente aos parasitas. Embasados nesses dados, nossos resultados indicam uma notória semelhança com os trabalhos anteriormente citados em relação aos padrões nociceptivos de camundongos BALB/c infectados com a espécie *L. (L.) amazonensis*. Contudo, não podemos afirmar se esse estímulo é decorrente da liberação das mesmas citocinas pró-inflamatórias.

Em relação à carga parasitária, observamos que após a PDT houve uma redução média de aproximadamente 25 e 50 % dos grupos PDT100 e PDT150, respectivamente, em relação ao grupo controle. Entretanto, o desvio padrão obtido foi elevado e não foi possível verificar uma significativa diminuição da carga parasitária. É bem conhecido que nos modelos *in vivo* existe uma grande variabilidade da resposta imunológica, inflamatória, e reparação tecidual dos animais, justificando o desvio padrão acentuado. Contudo, nossos resultados são promissores, uma vez que os tratamentos convencionais, além de possuírem efeitos colaterais graves, podem deixar cicatrizes graves, afetando, entre outros fatores, os aspectos psicológicos e sociais das pessoas acometidas (Desjeux, 2004; WHO, 2016). Logo, aprofundar pesquisas nessa área de alternativas terapêuticas torna-se imprescindível para que novas perspectivas que conciliem erradicação do parasita, melhora na inflamação, reparação tecidual, cicatrização das lesões e qualidade de vida sejam proporcionadas aos pacientes acometidos pela doença.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo mostra que a PDT mediada por azul de metileno promoveu melhora nos aspectos clínicos das lesões desenvolvidas nos animais infectados com *Leishmania (L.) amazonensis*, bem como melhora da hiperalgesia, sugerindo que o tratamento realizado pode ter influenciado na modulação da resposta inflamatória de camundongos, dependendo da fluência utilizada.

6. AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos aos órgãos de fomento CNPQ, FAPESP e CNEN pelo auxílio financeiro para execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKILOV, O.E.; KOSAKA, S.; O`RIORDAN, K.; HASAN, T. Photodynamic therapy for cutaneous leishmaniasis: the effectiveness of topical phenothiaziniums in parasite eradication and Th1 immune response stimulation. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v.6, n.10, p.1067-1075, 2007.
- AKILOV, O.E.; KOSAKA, S.; O'RIORDAN, K.; SONG, X.; SHERWOOD, M.; FLOTTE, T.J.; FOLEY, J.W.; HASAN, T. The role of photosensitizer molecular charge and structure on the efficacy of photodynamic therapy against Leishmania parasites. **Chemistry & Biology**, v.13, n.8, p.839-847, 2006.
- AKILOV, O.E.; YOUSAF, W.; LUKJAN, S.X.; VERMA, S.; HASAN, T. Optimization of topical photodynamic therapy with 3,7-bis(di-n-butylamino)phenothiazin-5-ium bromide for cutaneous leishmaniasis. **Lasers in Surgery and Medicine**, v.41, n.5, p.358-365, 2009.
- BORGHI, S.M.; FATTORI, V.; CONCHON-COSTA, I.; PINGE-FILHO, P.; PAVANELLI, W.R.; VERRI JR, W.A. Leishmania infection: painful or painless? **Parasitology Research**, v.116, n.2, p.465-475, 2017.
- COELHO, A.C.; OLIVEIRA, J.C.; ESPADA, C.R.; REIMÃO, J.Q.; TRINCONI, C.T.; ULIANA, S.R. A luciferase-expressing Leishmania braziliensis line that leads to sustained skin lesions in BALB/c mice and allows monitoring of miltefosine treatment outcome. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.10, n.5, p.e0004660, 2016.
- DAI, T.; HUANG, Y.Y.; HAMBLIN, M.R. Photodynamic therapy for localized infections – state of the art. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v.6, n.3/4, p.170-188, 2009.
- DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.27, n.5, p. 305-318, 2004.
- FELIZARDO, T.C.; GASPAR-ELSAS, M.I.; LIMA, G.M.; ABRAHAMSOHN, I.A. Lack of signaling by IL-4 or by IL-4/IL-13 has more attenuating effects on Leishmania amazonensis dorsal skin--than on footpad-infected mice. **Experimental Parasitology**, v.130, n.1, p.48-57, 2012.
- GREVELINK, S.A.; LERNER, E.A. Leishmaniasis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.34, n. 2 (Pt 1), p.257-272, 1996.
- HAMBLIN, M.R. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. **Current Opinion in Microbiology**, v.33, p.67-73, 2016.
- HAMBLIN, M.R.; HASAN, T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? **Photochemical & Photobiological Sciences**, v.3, n.5, p. 436-450, 2004.
- KANAAN, S.A.; SAADE, N.E.; KARAM, M.; KHANSA, H.; JABBUR, S.J.; JURJUS, A.R.; Hyperalgesia and upregulation of cytokines and nerve growth factor by cutaneous leishmaniasis in mice. **Pain**, v.85, n.3, p. 477-482, 2000.
- KARAM, M.C.; HAMDAN, H.G.; ABI CHEDID, N.A.; BODMAN-SMITH, K.B.; BAROODY, G.M. Interleukin-10 reduces hyperalgesia and the level of Interleukin-1 beta in BALB/c mice infected with Leishmania major with no major effect on the level of Interleukin-6. **Journal of Neuroimmunology**, v.183, n.1/2, p. 43-49, 2007.

- KARAM, M.C.; HAMDAN, H.G.; ABI CHEDID, N.A.; BODMAN-SMITH, K.B.; EALES-REYNOLDS, L.J.; BAROODY, G.M. Leishmania major: low infection dose causes short-lived hyperalgesia and cytokines upregulation in mice. **Experimental Parasitology**, v.113, n.3, p.168-173, 2006.
- KHARKWAL, G.B.; SHARMA, S.K.; HUANG, Y.Y.; DAI, T.; HAMBLIN, M.R. Photodynamic therapy for infections: clinical applications. **Lasers in Surgery and Medicine**, v.43, n.7, p.755-767, 2011.
- LATORRE-ESTEVEZ, E.; AKILOV, O.E.; RAI, P.; BEVERLEY, S.M.; HASAN T. Monitoring the efficacy of antimicrobial photodynamic therapy in a murine model of cutaneous leishmaniasis using L. major expressing GFP. **Journal of Biophotonics**, v.3, n.5/6, p. 328-335, 2010.
- MASPI, N.; GHAFARIFAR, F.; SHARIFI, Z.; DALIMI, A. Codelivery of DNA vaccination encoding LeIF gene and IL-12 increases protection against Leishmania major infection in BALB/c mice. **Parasite Immunology**, v.38, n.4, p. 228-235, 2016.
- MCGWIRE, B.; SATOSKAR, A. Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment. **QJM. An International Journal of Medicine**, v.107, n.1, p.7-14, 2014.
- NUÑEZ, S.C.; GARCEZ, A.S.; KATO, I.T.; YOSHIMURA, T.M.; GOMES, L.; BAPTISTA, M.S.; RIBEIRO, M.S. Effects of ionic strength on the antimicrobial photodynamic efficiency of methylene blue. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v.13, n.3, p. 595-602, 2014.
- PELOI, L.S.; BIONDO, C.E.; KIMURA, E.; POLITI, M.J.; LONARDONI, M.V.; ARISTIDES, S.M.; DOREA, R.C.; HIOKA, N.; SILVEIRA, T.G. Photodynamic therapy for american cutaneous leishmaniasis: the efficacy of methylene blue in hamsters experimentally infected with Leishmania (Leishmania) amazonensis. **Experimental Parasitology**, v.128, n.4, p. 353-356, 2011.
- REIMÃO, J.Q.; TRINCONI, C.T.; YOKOYAMA-YASUNAKA, J.K.; MIGUEL, D.C.; KALIL, S.P.; ULIANA, S.R. Parasite burden in Leishmania (Leishmania) amazonensis-infected mice: validation of luciferase as a quantitative tool. **Journal of Microbiological Methods**, v.93, n.2, p.95-101, 2013.
- RIBEIRO-GOMES, F.L.; SACKS, D. The influence of early neutrophil-Leishmania interactions on the host immune response to infection. **Frontiers in Cellular and Infectious Microbiology**, v.2, art.59, 2012.
- ROGERS, M.E.; BATES, P.A. Leishmania manipulation of sand fly feeding behavior results in enhanced transmission. **PLoS Pathogens**, v.3, n.6, p.e91, 2007.
- SACKS, D.; KAMHAWL, S. Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in leishmaniasis. **Annual Review of Microbiology**, v.55, p.453-483, 2001.
- SACKS, D.L.; PERKINS, P.V. Identification of an infective stage of Leishmania promastigotes. **Science**, v.223, n.4643, p.1417-1419, 1984.
- SASSI, A.; KAAK, O.; ELGAAIED, A.B. Identification of immunodominant Leishmania major antigenic markers of the early C57BL/6 and BALB/c mice infection stages. **Parasite Immunology**, v.37, n.10, p.544-552, 2015.

WAN, M.T.; LIN, J.Y. Current evidence and applications of photodynamic therapy in dermatology. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. 7, p. 145-63, 2014.

WHO. World Health Organization. **Epidemiological situation**. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en>. Acesso em: 11 outubro 2016.

YOUNG, E.E.; BRYANT, C.D.; LEE, S.E.; PENG, X.; COOK, B.; NAIR, H.K.; DREHER, K.J.; ZHANG, X.; PALMER, A.A.; CHUNG, J.M.; MOGIL, J.S.; CHESLER, E.J.; LARIVIERE, W.R. Systems genetic and pharmacological analysis identifies candidate genes underlying mechanosensation in the von Frey test. **Genes, Brain and Behavior**, v.15, n.6, p.604-615, 2016.

INFLUENCE OF SAMPLES CONDITIONING TEMPERATURE ON CYTOGENETIC DOSIMETRY

Thiago de Salazar e Fernandes^{1,2*}; Silvana Rodrigues Leoncio^{1,2}; Amanda Iumatti Santos Firmo Xavier^{1,2}; Mariana Brayner Cavalcanti¹ and Ademir Amaral¹

¹Laboratório de Modelagem e Biodosimetria Aplicada (LAMBDA), Departamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, PE – Brasil

²Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco, PE – Brasil

*Avenida Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, PE – Brasil, CEP: 50670-901

E-mail: thiagosalazar@hotmail.com

Resumo

A dosimetria citogenética se baseia na quantificação de aberrações cromossômicas em linfócitos irradiados para estimar a dose absorvida. O objetivo desta pesquisa foi investigar a influência da temperatura (4 e 37 °C) na formação de dicêntricos e fragmentos e conseqüentemente na dose estimada. Foram coletadas amostras de sangue periférico de dois indivíduos saudáveis. As amostras foram irradiadas com a dose de 3Gy de raios-X. Após a irradiação, as amostras foram mantidas a 4 e a 37 °C por 2 horas, e as amostras não irradiadas seguiram as mesmas condições. As células foram cultivadas de acordo com o protocolo padrão bem estabelecido para a citogenética convencional. As amostras não irradiadas não apresentaram aberrações cromossômicas. As frequências de cromossomos dicêntricos a 4°C foi inferior que a 37°C. Provavelmente isto se deve à ineficiência das enzimas de reparo celular em temperaturas abaixo da fisiológica. Também foi verificado que as diferenças de temperatura podem estar correlacionadas com a formação de fragmentos acêntricos, em que as frequências foram maiores a 4°C, também porque nesta temperatura a ineficiência das enzimas de reparo levam às aberrações incompletas. Por outro lado, todas as doses estimadas utilizando a nossa curva de calibração estiveram dentro dos 95% de limite de confiança.

Palavras-chave: Temperatura, Radiação ionizante, Cromossomo

Abstract

Cytogenetic dosimetry is based on the quantification of chromosome aberrations from lymphocytes in order to estimate the absorbed dose of ionizing radiation. The purpose of this research was to investigate the influence of different temperatures (4 and 37 °C) on the formation of dicentric and fragments and consequently in the estimated doses. It was collected peripheral blood samples from two healthy subjects. The samples were irradiated with the dose of 3 Gy of X-rays. Following irradiation, the samples were kept at 4 and 37 °C for 2 hours, and the non-irradiated samples followed the same conditions. Cells were cultivated according to the standard protocol well established for conventional cytogenetics. The non-irradiated samples did not present any chromosome aberrations. The frequencies of dicentric chromosomes at 4°C were inferior to at 37°C. Probably this was due to the inefficiency of cellular repair enzymes at temperatures below the physiological one. Also it was verified that the differences of temperature can be correlated to the formation of acentric fragments, which were higher at 4 °C, also because at this temperature the inefficiency of repair enzymes leads the aberrations incomplete. On the other hand, all the doses estimated by using our calibration curve were within the 95% confidence limit.

Key words: temperature, ionizing radiation, Chromosome

1. INTRODUCTION

Ionizing radiations (IR) are widely applied in science and technology for several purposes, as their use for the treatment of cancer in medicine. As result, most of the human exposures to IR is due to medical applications. The knowledge of absorbed dose of radiation is a fundamental step in the management of risks associated to a human exposure (IAEA, 2011).

Unstable chromosome aberrations (manly, dicentrics, fragments and rings) are well-known individual biomarkers, and the quantification of such aberrations has been applied when radiation incidents are investigated used for estimating radiation doses. x In the cases of high exposures (>1Gy acute), this method allows to predict the clinical signs and symptoms of the acute radiation syndrome, alerting the medical team about the procedures needed to mitigate or alleviate the symptoms. On the other hand, if the estimated absorbed dose below 1Gy, this information is fundamental in counseling irradiated persons about risk of developing cancer. Besides this, for individuals who exposure is too low, the knowledge that no significant frequency of chromosomal aberrations could be found is very reassuring (IAEA, 2011).

It is well established that each laboratory has to employ its own calibration curve of dose-effect, obtained from in vitro irradiation of blood samples with known absorbed doses of IR by scoring the frequency of dicentric chromosomes in a large number of peripheral lymphocytes (IAEA, 2011). Studies about improvements of cytogenetic dosimetry shown that the temperature of blood samples, before and after irradiation, is a factor that interferes in the frequency of unstable chromosome aberrations, leading to errors in the estimation of the absorbed dose of IR (Hall, 2006; Cumrich et al., 1986).

This is due to the fact that the temperature interferes in the non-homologue repair process, which corrects the double strand breaks in G1 by the protein complex ku70 and ku80 to the DNA, in the G1-phase of cell cycle. After this, the DNA-dependent protein kinase catalytic subunit binds to this complex and allows the ligation of kinase proteins to the DNA-PKcs site, and proteins of the complex MRE11- RAD50- NBS1 (MRN) are activated by phosphorylation, with the function of exonuclease, endonuclease and helicase (Gaubeuret et al., 2015).

The exonuclease removes the nucleotides from the endpoints of DNA, while the endonuclease allows to remove regions into the DNA strand, being the artemis the main nuclease involved in this process. To access this region, the function of helicase of the complex MRN allows the separation of the double helix around the region of repair. The complex formed by Ku, Ligase IV, XRCC4, DNAPKcs and a DNA polymerase, aligns, rejoins and binds the extremities, restoring the DNA molecule (Gaubeur et al., 2015).

With this, the hypothesis of the present research is that lowering the temperature of blood samples after irradiation will interfere in the number of chromosome aberrations visualized under the microscope. This could be a confounding factor for dose estimates by cytogenetic dosimetry after a radiological incident, where there is no agreement yet about the temperature where blood samples should be kept before cell culture and cytogenetic analysis.

The aim of this research was to evaluate the effect of two temperatures of conditioning the blood samples after in vitro irradiation, at the temperature of 4 °C and at 37 °C (the body temperature) , in order to investigate the influence of these two temperatures in the formation of chromosome aberrations and the impact on the estimated dose.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Samples

It was collected 9 mL of blood samples from 02 healthy subjects with ages of 20 and 36 years (1 male and 1 female, named I and II) in tubes containing heparin. The samples were

conditioning at 37 °C until irradiation. All individuals involved in this research signed a written informed consent before blood collection, following recommendations of ethics committee from Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (Number 1.102.076). The samples were irradiated by X-rays (6 MeV LINAC) with the absorbed dose of 3Gy (dose rate of 200 cGy per minute). The blood samples were introduced into the fantoma, a block with a density similar to human tissue ($\rho = 1,0 \text{ g/cm}^3$). The block is positioned with the center of the field coinciding with the center of the syringe, with a distance of 100 cm between the origin of the field of radiation and the surface of the block.

After the irradiation, both non-irradiated and irradiated samples were conditioned in two different temperatures that is 37 °C (the body temperature) and 4 °C (the temperature kept in ice) for two hours. These temperatures were monitored by the use of thermometers during all steps after irradiation.

2.2 Cell culture

Cell cultures were performed according to the protocol of IAEA (2011), with minor modifications. Peripheral lymphocytes were cultured in triplicate, with 4 mL of RPMI 1640 (Cultilab, Brazil), 0.5 mL of fetal bovine serum (Cultilab, Brazil), 0.4 mL of peripheral blood and 0.1 mL of phytohaemagglutinin (Cultilab, Brazil) and incubated during 48 hours for 37 °C and 5% CO₂. Three hours before the end of cell culture, 0.1 mL of Colcemid 25 mg/ml in 0.85% saline (Sigma-Aldrich, Irvine, UK), was added in order to interrupt cell division in metaphase, stage in which chromosomes can be analyzed and scored. After 48 hours of incubation, cells were harvested by centrifugation (300 x g in all steps), dropping the supernatant and adding to the pellet 0.56% KCl to hypotonic shock. Cells were resuspended in methanol:acetic acid (3:1) in 3 washes and slides prepared by dropping the suspension onto slides scored by Giemsa 5%.

2.3 Slide Analyses and Dose Estimation

Slides were analyzed using two optical microscope magnifications (Leica DME 13595, Germany): 20X in order to localize the metaphases, and 100X to evaluate and score chromosomes. For slides obtained from blood samples conditioned at 4 °C, 82 metaphases were scored, while for the slides prepared from blood samples previously kept at 37 °C, 116 metaphases because of the better mitotic index. For non-irradiated cells, it was scored 100 cells in both conditions. According to IAEA protocol, in a normal metaphase, 46 “objects” have to be counted. In the presence of a dicentric, also 46 objects are present, including the dicentric and acentric fragment. In the presence of excessive acentrics, the number of objects will be higher than 46. For estimating the absorbed dose, it was used the calibration curve of our laboratory and using the software CABAS with 95% limit of confidence. ANOVA test was performed to compare the frequencies of dicentrics among conditions. Significant differences were defined if $p < 0.05$.

3. RESULTS AND DISCUSSION

For non-irradiated samples, it was not found chromosome aberrations in 100 metaphases analyzed.

Table 1 show the number of cells scored, the numbers of rings, acentric fragments (AF) and dicentric chromosomes (Dic), the frequencies (Freq) of dicentrics with its standard deviations (SD), and the distribution of dicentrics among cells. No evidence of statistical significance, i.e. no statistical difference between the yields for the subject or the conditions, was found between 4 and 37 °C ($p > 0.05$).

Table 1 also shows the results of the u-test (normalized dispersion index) for testing if the distributions of dicentrics per cells follow a Poisson distribution, calculated from the division of the variance (σ^2) by the mean number of dicentrics per cell. If the magnitude of u exceeds 1.96, the distribution is significantly overdispersed.

Data in Table 1 show that the intercellular distribution of dicentrics at all doses at 4 and 37°C followed a Poisson distribution, however, a borderline statistical significance (p approximately 0.05) was observed between the conditions in terms of the resulting of u value, that is there possibly might be a real significant difference between the conditions in terms of the distribution of aberrations among cells. The biological significance of this result would need more research with more data.

TABLE 1. Number of cells analyzed (N° Cells), rings, acentric fragments (AF), dicentrics (Dic), frequencies of dicentrics (Freq) and standard deviation (SD), distribution of dicentrics per cells, the variance per mean and u-test, in the two conditions (4 and 37 °C).

Subjects	Sample conditioning temperature	N Cells	Rings	AF	Dic	Freq ± SD	Distribution*					Var/ μ	u-test
							D0	D1	D2	D3	D4		
I	4 °C	116	13	43	56	0.4828 ± 0.0650	71	36	7	2	0	0.990 ± 0.131	-0.076
II		82	1	36	34	0.4146 ± 0.0710	53	24	5	0	0	0.890 ± 0.155	-0.708
I	37 °C	116	11	18	65	0.5603 ± 0.0700	63	43	8	2	0	0.878 ± 0.131	-0.932
II		82	2	17	36	0.4390 ± 0.0730	49	30	3	0	0	0.737 ± 0.155	-1.700

*D0 – number of cells with no dicentrics; D1 – number of cells with 1 dicentric; D2 – number of cells with 2 dicentrics; D3 – number of cells of 3 dicentrics; D4 – number of cells with 4 dicentrics.

In terms of the formation of dicentric chromosomes by 3 Gy of X-rays in samples kept 2 hours after irradiation at 4 and 37 °C, it is noticeable an apparent increase of dicentric chromosomes in the temperature of 37 °C for subject 1 (Figure 1).

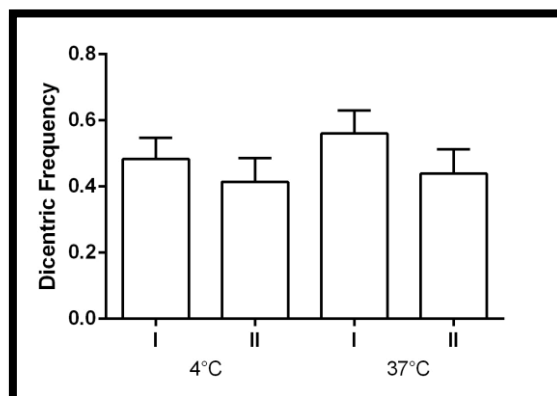


FIGURE 1. Frequencies of dicentric chromosomes after samples were irradiated with 3Gy of X-rays and kept at 4 and 37 °C.

The increased frequency of dicentrics at 37 °C was evidenced by Lisowska et al. (2013). These authors suggest that the hypothermy interfere in the repair process (proteins involved with the repair), lowering the number of dicentrics, which are the result of misrepair.

DNA-ligase IV, one of the proteins involved in the restoration process of the DNA molecule, is responsible for the occurrence of non-homologous repair, and according to the authors Moroni et al. (2008), this protein present a dependence of the temperature for its activity. This would explain why at 4 °C the higher presence of incomplete aberrations such as acentric fragments.

Other research have shown that when the blood samples are conditioned at 37 °C there is an increase in the frequency of chromosome aberrations and, with the reduction of the temperature to 0 to 10 °C, this yield is decrease by 50% (Bajerska; Liniecki, 1969; Gumrich et al., 1986; Virsik-Peuckert; Harder, 1986; Brzozowska et al., 2009). In the present research, we observed this phenomenon only for dicentrics, in the case of subject I, but not for acentric fragments for any subject or condition, which in fact it was observed a significant increase of this type of aberration at 4 °C.

According to Moroni et al. (2008), both homologous and non-homologous recombination has a strong dependence of the temperature of the extracellular medium. Therefore, it would be expected that conditioning the blood samples at the body temperature would allow a better response in terms of repair after irradiation. As the dicentric chromosome is the result of misrepair, this would explain an increase of such aberrations at physiological temperature, and its reduction at lower temperatures. Also it would explain the higher number of incomplete aberrations (i.e., acentric fragments) at 4 °C observed at the present study, probably due to the inefficiency of the proteins involved in DNA repair at this temperature, corroborating to Lisowska et al. (2013).

It should be emphasized that until the present moment there is no consensus about the mechanisms involved with the influence of temperature in the process of chromosome damage. Some hypotheses were already presented by other authors:

1- The chromatin in lower temperature would have an alteration in its conformation, protecting its structure to the effects of ionizing radiation (Falk et al., 2008; Brzozowska et al., 2009; Dang et al., 2012).

2- The effect of low temperature on indirect effect and oxygen diffusion (Brzozowska et al., 2009).

3- The lower temperature would affect the action of enzymes of repair (Brzozowska et al., 2009).

In hypothesis 1, it would be possible that low temperature make the conformation of chromatin more compact as it naturally happens in the heterochromatic regions (which are more resistant to ionizing radiation), but this would reflect only in the decrease of dicentrics, and not in the increase of acentric fragments observed by the present research.

In hypothesis 2, Elmroth et al. (2003) demonstrated that the radioprotective effect of low temperature (2 °C) disappear when the irradiation is performed in the presence of 0.5 M de DMSO (Dimetilsulfóxido), an anti-oxidant agent. The frequencies of radioinduced damages at 2 and 37 °C were equivalent when this agent is added, which is a strong evidence of the importance of the indirect effect for the formation of chromosome aberrations. On the other hand, the higher number of acentric fragments at lower temperature does not support the suggestion that there is a decrease of the indirect effect.

The increase of incomplete aberrations (i.e., acentric fragments) at lower temperatures and in parallel the decrease of complete aberrations (i.e., dicentrics) at physiological temperature, observed in the present work, is a strong evidence for the hypothesis 3, in which the lower temperature affect the activity of the protein complex involved in non-homologous recombination. In order to confirm if the frequencies of dicentrics in each condition and each subject did not present any influence on dose estimates by cytogenetic dosimetry, the doses were estimated using the

calibration curve at 37 °C of LAMBDA/DEN/UFPE ($y = 0.001 \pm 0.007 + 0.013 \pm 0.007D + 0.056 \pm 0.004D^2$). The data are shown in Table 2 below.

TABLE 2. Absorbed doses estimated by the calibration curve.

Conditions	Subjects	Estimated dose (Gy)	LCL – UCL* (Gy)
4 °C	I	2.82	2.43 – 3.23
	II	2.60	2.15 – 3.10
37 °C	I	3.05	2.66 – 3.46
	II	2.68	2.22 – 3.18

*LCL – lower confidence limit (95%); UCL – upper confidence limit (95%)

All estimated doses were into the 95% of confidence limit of the curve and comprise the real dose of 3 Gy. Some authors have observed a higher beta coefficient (β) of the quadratic equation of the calibration curve at this temperature when compared to lower temperatures (Lisowska et al., 2013), but this was not supported by the present work, and both temperatures would be adequate for cytogenetic dosimetry purposes, despite the slightly better estimate for subject I at 37 °C.

4. CONCLUSIONS

The temperature of conditioning blood samples showed to influence the formation of chromosome aberrations induced by ionizing radiation, specially acentric fragments. The results suggest that at lower temperatures, the chromosome breaks induced by ionizing radiation are enable to rejoin probably by the inefficacy of the DNA repair enzymes at this temperature. The main hypothesis presented here is that the temperature influence in the protein complex involved in the non-homologous repair process. Even being of great interest for better understanding the influence of temperature in the formation of chromosome aberration and DNA repair, the temperature was not a 'confounding factor' for estimating the absorbed dose (or a 'dose modifier'), since the absorbed doses were independent of subject or conditioning temperature within the 95% confidence interval of the calibration curve.

5. ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to acknowledge the laboratory of modeling and applied biodosimetry (LAMBDA/DEN/UFPE) and the sector of Radiotherapy of IMIP/PE/Brazil.

REFERENCES

- BAJERSKA., A. and LINIECKI., J. The Influence of X-ray Dose and Time of Its Delivery *in Vitro* on the Yield of Chromosomal Aberrations in the Peripheral Blood Lymphocytes. **Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.** Vol. 16, No. 5 , p. 467-481, 1969.
- BRZOWSKA, K.; JOHANNES, C.; OBE, G.; HENTSCHEL, R.; MORAND, J.; MOSS, R.; WITTIG, A.; SAUERWEIN, W.; LINIECKI, J.; SZUMIEL, I.; WOJCIK, A., Effect of temperature during irradiation on the level of micronuclei in human peripheral blood lymphocytes exposed to X-rays and neutrons. **Int. J. Radiat. Biol.**, Vol. 85, No. 10, p 891–899, 2009,
- DANG, L.; LISOWSKA, H.; SHAKERI MANESH, S.; SOLAZZO, A.; STAAF, E.; HAGHDOOST, S.; BREHWENS, K.; WOJCIK, A. Radioprotective effect of hypothermia on cells – a multiparametric approach to delineate the mechanisms. **International Journal of Radiation Biology**, Vol. 88, p. 507-514, 2012.

- ELMROTH, K.; NYGREN, J.; STENERLOW, B.; HULTBORN, R. Chromatin- and temperature-dependent modulation of radiation-induced double-strand breaks. **International Journal of Radiation Biology**, Vol. 79, p, 809-816, 2003.
- FALK, M.; LUKASOVA, E.; KOZUBEK, S. Chromatin structure influences the sensitivity of DNA to gamma-irradiation. **Biochimica Biophysica Acta**, Vol. 1783, p. 2398-2414, 2008.
- GAUBEUR, M. A., MOURA, E. I., CHAMMAS, R. Marcadores radiométricos de dano ao DNA: possíveis alvos e estado atual. **Rev Med** (São Paulo), Vol. 95, No. 1, p. 46-56, 2015.
- GUMRICH, K.; VIRSIK-PEUCKERT, R. P.; HARDER, D. Temperature and formation of radiation-induced chromosome aberrations. I. The effect of irradiation temperature. **International Journal of Radiation Biology**, Vol. 49, No. 4, p. 665-672, 1986.
- HALL, E. J.; GIACCIA, A. J. **Radiobiology for the Radiologist**. 6. ed. Philadelphia: Ed. Lippincott Williams & Wilkins, p. 546 ,2006..
- IAEA (International Atomic Energy Agency). **Cytogenetic dosimetry: Applications in preparedness for and response to radiation emergencies**. Vienna: Scientific and Technical. Publications; 2011.
- MORONI, M. M.; KRASNOPOLSKY, K.; SUBRAMANIAN, U.; MARTIN, P. R.; DOHERTY, K. M.; PRASANNA, P. G. S. Does cell culture type and blood transport temperature affect dicentric yield and radiation dose assessment. **Journal of Medical Chemical, Biological and Radiological Defense**, Vol. 6, 2008.
- VIRSIK-PEUCKERT, R. P.; HARDER, D. Temperature and the formation of radiation-induced chromosome aberrations. II. The temperature dependence of lesion repair and lesion interaction. **International Journal of Radiation Biology**, Vol. 49, No. 4, p. 673-681, 1986.

AVALIAÇÃO DE DETECTORES PARA BIOANÁLISE DE SANGUE EM TERAPIAS COM ^{177}Lu E ^{131}I PARA DOSIMETRIA DE MEDULA ÓSSEA

Silvia Maria Velasques de Oliveira^{1*}, ÂmilieLouizeDegenhardt¹, Akira Iwahara¹

¹Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD/CNEN), Rio de Janeiro

*Av. Salvador Allende s/n, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, CEP 22783-127

E-mail: silviamvelasques@gmail.com

Resumo

A rastreabilidade das medições é indispensável para minimizar incertezas em dosimetria interna e garantir a qualidade do padrão. Em estudos clínicos, os detectores devem ter resolução e eficiência compatíveis com as energias dos radionuclídeos e, adicionalmente, ser capazes de quantificar variações significativas em atividades de amostras do corpo humano, desde a sua administração até próximas à atividade residual mínima detectável. Para testar um conjunto de instrumentos, formado por câmara de ionização (ativímetro), cintilador de iodeto de sódio e detector de germânio hiperpuro, foram usadas 15 fontes de ^{177}Lu e ^{131}I previamente medidas na câmara padrão secundário no Laboratório Nacional de Metrologia das Radiações Ionizantes (LNMRI/IRD). As eficiências da câmara de ionização variaram, respectivamente, para ^{131}I e ^{177}Lu , entre $(105,20 \pm 2,65)\%$ e $(101,63 \pm 4,38)\%$ e para o detector HPGe variaram, respectivamente, entre $(87,08 \pm 2,63)\%$ e $(90,90 \pm 3,57)\%$. Para o detector NaI, as eficiências para fontes de ^{177}Lu posicionadas variaram entre $(12,66 \pm 0,01)\%$ e $(11,54 \pm 0,07)\%$ e para fontes de ^{131}I posicionadas variaram entre $(29,76 \pm 0,21)\%$ e $(30,20 \pm 0,04)\%$. Essas variações podem ser atribuídas às energias dos radionuclídeos, pois não foram alteradas as condições de medição (distância ao detector, tipo de detector, temperatura e BG constantes). Recomenda-se usar câmara de ionização no caso de amostras coletadas no primeiro dia do procedimento terapêutico (atividades mais altas) e detector de HPGe a partir do segundo dia (atividades mais baixas).

Palavras-chave: radiofármacos; biodosimetria; medula óssea

Abstract

The measures traceability is mandatory for minimizing uncertainties in internal dosimetry for therapeutic clinical studies with radiopharmaceuticals and ensures the quality of the standard. Detectors should have resolution and efficiency compatible with radionuclides energies and, additionally, be able to quantify variations in human bodies' activities samples since the initial administration near the minimum residual activities. For testing efficiencies of ionization chamber, sodium iodine scintillator and high hiperpure germanium detector, they were prepared 15 ^{177}Lu and ^{131}I radiation sources previously measured in the secondary standard ionization chamber at the Laboratório Nacional de Metrologia das Radiações Ionizantes (LNMRI/IRD). The ionization chamber efficiencies ranged, respectively for ^{131}I and ^{177}Lu , between $(105.20 \pm 2.65)\%$ and $(101.63 \pm 4.38)\%$ and HPGe semiconductor detector efficiencies ranged, respectively, between $(87.08 \pm 2.63)\%$ and $(90.90 \pm 3.57)\%$. For the NaI detector, for ^{177}Lu the efficiencies ranged between $(12.66 \pm 0.01)\%$ and $(11.54 \pm 0.07)\%$ and for ^{131}I efficiencies ranged between $(29.76 \pm 0.21)\%$ and $(30.20 \pm 0.04)\%$. The efficiencies variations may be attributable to the radionuclides energies, since the experimental conditions were maintained (distance source-detector, detector type, temperature, background radiation). It is recommended the use of ionization chamber for measuring activities in the first day samples and the HPGe detector for the second and subsequent days sampling.

Key words: radiopharmaceuticals, biodosimetry, bone marrow

1. INTRODUÇÃO

A dosimetria interna faz parte dos testes de segurança de radiofármacos para evitar efeitos colaterais em órgãos radiosensíveis, como rins e medula óssea (ZAKNUN, 2013). A dosimetria física considera diferenças entre os pacientes, como peso corporal, altura, massas dos órgãos, preparo do paciente, hidratação e biodistribuição (SIEGEL, 1999). A dosimetria biológica permite correlacionar efeitos sistêmicos a longo prazo de exposições às radiações com efeitos biológicos como morte celular e danos na cadeia do DNA, usando métodos como contagem de aberrações cromossômicas e quebras duplas da cadeia do DNA (LASSMANN, 2015).

Para terapias com radiofármacos, as atividades administradas são limitadas pela toxicidade hematológica na medula óssea (HINDORF, 2010). A medula óssea é parte do esqueleto, estando disseminada através do corpo, situada dentro das cavidades dos ossos. O peso total da medula óssea é aproximadamente 5.0% do peso total do corpo ou 3.650 g para um homem adulto saudável. Tanto a distribuição entre medula vermelha e amarela como a distribuição espacial da medula vermelha dentro do corpo sofrem alterações com idade. Todas as células sanguíneas são produzidas na medula vermelha e originam-se a partir de células tronco (ICRP, 2002).

A dosimetria interna de pacientes pediátricos é, geralmente, avaliada com modelos biocinéticos disponíveis para adultos, o que implica em superestimativa das atividades a serem administradas e, conseqüentemente, aumento do risco radiológico (BOUCHET, 2003).

A dosimetria de medula óssea considera a relação entre concentração de atividade no sangue e a concentração de atividade na medula óssea (FORRER, 2009). Podem ser usados modelos metabólicos, tempos de residência e atividade acumulada para corpo inteiro e órgãos-fonte (HINDORF, 2010). As contribuições para a dose absorvida média na medula óssea são a atividade na medula óssea (originadas no fluido extracelular e no sangue ou componentes sanguíneos), atividade nas células da medula óssea, a atividade no osso e no restante do corpo (atividade na maioria dos órgãos). Todas as contribuições para a dose absorvida na medula dependem da biodistribuição e farmacocinética do radiofármaco. Para diminuição de incertezas da curva “tempo de residência e atividade acumulada em função do tempo”, o tempo de cada coleta deve ser registrado corretamente (HINDORF, 2010). As estimativas de dose absorvida na medula óssea vermelha consideram: (i) auto-irradiação por partículas β ; (ii) irradiação γ no resto do corpo; (iii) concentração de atividade similar no sangue e na medula óssea vermelha (SGOUROS, 2005). A atividade em órgãos e no corpo inteiro pode ser determinada através da quantificação de imagens cintilográficas (SIEGEL, 1999).

No Brasil, usa-se em rotina procedimentos terapêuticos com $^{131}\text{I-Na}$ para hipertireoidismo e carcinoma de tireóide, $^{131}\text{I-MIBG}$ para neuroblastomas com, $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ para dor óssea metastática e $^{153}\text{Sm-HA}$ para artropatia hemofílica para médias articulações (cotovelos e tornozelos) ou joelhos. Em alguns hospitais são realizadas terapias com $^{177}\text{Lu-DOTATATE}$ para tumores neuroendócrinos em pacientes com expressão de somatostatina e presença de metástases para tumores inoperáveis.

Para doenças da tireoide, a eficácia da radioiodoterapia depende do tamanho das massas da tireoide remanescentes, da atividade acumulada, da meia-vida efetiva e biodistribuição do $^{131}\text{I-Na}$. Antes da dose ablativa ou terapêutica, pode ser administrada uma pequena atividade para avaliar o metabolismo e, quando possível, aumentar a atividade na fase terapêutica sem risco de toxicidade em órgãos radiosensíveis (LASSMANN, 2008). O planejamento da radioiodoterapia pode ser realizado uma semana antes da terapia, adquirindo-se imagens cintilográficas e coletadas amostras de sangue (LASSMANN, 2008).

Em bioanálise, a diferença entre os tempos de coleta das amostras de sangue de ^{131}I e ^{177}Lu deve-se às meias-vidas biológicas, sendo a do ^{177}Lu menor do que a do ^{131}I (LASSMANN, 2015). Neste trabalho, estudou-se os limites de detecção e eficiência de detectores para bioanálise de amostras biológicas de pacientes submetidos a terapias com $^{177}\text{Lu-DOTATATE}$ e $^{131}\text{I-Na}$.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Para preparação das fontes foram usados: solução de 5 mL contendo 108,4 MBq de ^{177}Lu -DOTATATE; solução de 0,55 mL contendo 111 MBq de ^{131}I -NaI; solução de 2 mL contendo 37 MBq de ^{131}I -NaI; 10 mL de soro fisiológico (NaCl) para dissolver as soluções de ^{131}I e de ^{177}Lu ; ampolas com capacidade de 5 ml e massa líquida de 2,6 g (geometria de medição do LNMRI); picnômetros para sucção das soluções de ^{131}I e de ^{177}Lu após dissolvidas com NaCl; balança analítica Sartorius modelo BL 15005.

Os seguintes detectores de radiação de propriedade do IRD foram empregados: câmara de ionização padrão secundário Centronics modelo IG11; detector de iodeto de sódio LTI Genesys modelo Gamma-1; câmara de ionização CARPINTEC modelo CRC 25-R e detector semicondutor HPGe ORTEC modelo GMX 70P495.

A câmara de ionização CRC 25-R é um detector a gás tipo poço, conhecido como ativímetro ou curiômetro, usado para medição da grandeza atividade. O background (BG) do detector é $1,8 \pm 0,05$ kBq. Segundo o fabricante, esse instrumento pode medir atividades entre 250 GBq (6 Ci) e 0,001 MBq (0,01 μCi). O eletrômetro tem exatidão $\pm 2\%$; linearidade $\pm 2\%$; tempo de resposta de 2 segundos ou 4 a 16 segundos. A repetibilidade de medidas é $\pm 1\%$ em 24 h para equipamento ligado permanentemente.

O detector semicondutor de germânio de alta pureza (hiperpuro, HPGe) é usado para medidas de atividades próximas às de radiação ambiental. Para ^{177}Lu e ^{131}I , as atividades mínimas detectáveis são, respectivamente, 8,42 Bq e 3,61 Bq, as quais estão relacionadas à radiação de fundo no ambiente. A calibração de energia do detector HPGe consiste em estabelecer a relação entre um fotopico de energia e canal que corresponde ao centro do fotopico.

Softwares: Pacote estatístico SPSS v.13 para Windows (média, desvio padrão e teste T pareado). Software ETNA (Laboratório Nacional H. Becquerel, França), para calcular a eficiência do HPGe em diferentes densidades e geometrias de medições.

2.2 Grandezas

A atividade acumulada representa a atividade constante por um tempo definido que se iguala em desintegrações à realidade de decaimento físico ou efetivo de uma quantidade de radionuclídeo ao longo do tempo. Sua unidade é o Bq.s (mCi.h).

A atividade em um órgão ou tecido pode ser descrita como uma soma de exponenciais (Eq. 1) ou através de uma expressão média (Eq. 2) (SIEGEL, THOMAS et al, 1999):

$$R(t) = \frac{A(t)}{A_0} = A_1 \cdot e^{\left(-\frac{\ln(2) \cdot t}{T_{1/2ef1}}\right)} + A_2 \cdot e^{\left(-\frac{\ln(2) \cdot t}{T_{1/2ef2}}\right)} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$R(t) = \frac{A(t)}{A_0} = e^{\left(-\frac{\ln(2) \cdot t}{T_{1/2ef}}\right)} \quad (\text{Eq. 2})$$

onde:

R(t): fração da atividade pela atividade inicial em função tempo;

A(t): atividade em função do tempo;

A0: atividade inicial;

A1, A2: constantes de ajuste;

t: tempo;

T1/2ef1 e T1/2ef2: meias-vidas efetivas do primeiro e do segundo termo, respectivamente;

T1/2ef: meia-vida efetiva média.

A incerteza total da dose absorvida no órgão ou região alvo pode ser obtida propagando-se as incertezas associadas a cada parâmetro da Equação 3 (ICRP, 2002):

$$D_T = \frac{k \bar{A}_S \sum_i y_i E_i \phi_i}{m_T}, \quad (\text{Eq. 3})$$

onde:

DT: dose absorvida no órgão ou tecido T;

\bar{A}_S é a integral tempo-atividade da atividade dentro da região alvo (Bq.s);

y_i é o número de radiações com energia E_i emitidas do radionuclídeo por decaimento ([Bq.s]-1);

E_i é a energia da radiação (MeV);

ϕ_i é a fração de energia emitida em uma região fonte que é absorvida na região alvo (fração absorvida);

m_T é a massa da região alvo (kg) e k é a constante de proporcionalidade (Gy.kg.Bq-1.s-1.MeV-1)

A incerteza associada ao parâmetro ϕ_i é baseada em padronizações como as do BrookhavenNationalLaboratoryNational Nuclear Data Center Decay Data Compendium (<http://www.nndc.bnl.gov/>).

2.3 Método para determinar atividades de fontes padrões

Para simular amostras de sangue que podem ser coletadas durante bioanálise, foram preparadas fontes padrões de ^{177}Lu e ^{131}I em atividades semelhantes às empregadas em situações reais. O volume de sangue do homem padrão é 5,3 L para homens adultos (70 kg) e 1,4 L para crianças de 5 anos (ICRP, 2002). Foram estimadas as concentrações de atividades que podem ser encontradas em amostras de sangue de 2mL. Para o cálculo do decaimento, como não há referências para meia-vida efetiva em crianças, foram usados os mesmos valores de adultos.

Padrões de ^{177}Lu

O protocolo para tratamento de tumores neuroendócrinos com ^{177}Lu -DOTATATE é de 1 a 5 ciclos de 7,4 GBq (200 mCi) administrados por via intravenosa com bomba infusora. Para cada ciclo, são administrados previamente por 30 min e via intravenosa infusão de aminoácidos para proteção renal. Em seguida, também por via intravenosa durante 10 a 30 min, é administrada solução de ^{177}Lu -DOTATATE diluída em solução salina, totalizando 100 mL (KAM, 2012). Considerando 1,61 h a meia-vida efetiva para a fase de distribuição (entre 1,44 h e 1,83 h) e 42,9 h para a fase de eliminação (entre 38,8 h e 51,4 h) (SANDSTRÖM, 2013), respectivamente $\lambda_1 = 0,43 \text{ h}^{-1}$ e $\lambda_2 = 0,016 \text{ h}^{-1}$, a concentração em 5,3 L de sangue será 1,39 MBq/mL, caso a atividade fosse administrada de uma vez só. Para coleta de 2mL, a atividade máxima na primeira amostra (a 0,5 h da infusão) será 2,2MBq, considerando a meia-vida efetiva média em 30 minutos após o início da infusão. A concentração em 1,4 L de sangue será 2,1 MBq/mL e a atividade máxima ocorrerá após o término da infusão. Experimentalmente, cerca de 90% da concentração de atividade no sangue é eliminada nas primeiras 24 h e tende a zero a partir de 168 h (SANDSTRÖM, 2013). Foram estimadas atividades para coletas de 10 amostras, desde 30 min após o início da infusão (logo após o término de transferência da infusão de 100 mL), 5 amostras no primeiro dia (1 h, 2 h, 4 h, 8 h e 24 h) e 4 amostras entre o terceiro e o oitavo dia (72 h, 96 h e 168 h).

Padrões de ^{131}I

Para carcinoma diferenciado da tireóide, as atividades da dose ablativa são definidas

utilizando-se o sistema TNM (HEDINGER, 1988): TI e TII: 3,7 GBq (100 mCi) de $^{131}\text{I-NaI}$; TIII e TIV: 5,5 GBq (150 mCi) de $^{131}\text{I-NaI}$. Quando ocorre disseminação do tumor para outros órgãos do corpo (“focos metastáticos”), e levando-se em consideração outros fatores como localização e extensão das metástases, as atividades de $^{131}\text{I-NaI}$ (doses terapêuticas) variam de 7,4 a 14,8 GBq (200 a 400 mCi). A concentração máxima em 5,5 GBq será 0,95 MBq/mL e 3,05 MBq/mL para adultos e crianças de 5 anos, respectivamente.

A meia-vida efetiva foi estimada considerando-se dois protocolos: (a) prévia retirada de hormônios tireoidianos antes da terapia, meia-vida efetiva 15,7 h ($\lambda=0,044\text{ h}^{-1}$); (b) administração de TSH recombinante, meia-vida efetiva 10,5 h ($\lambda=0,066\text{ h}^{-1}$) e protocolo de coleta (LASSMANN, 2008): 2 h, 6 h, 24 h, 96 h, 144 h, 168 h.

2.4 Avaliação da eficiência dos detectores

O teste de eficiência foi usado para calcular o fator de calibração, dividindo-se o valor de contagens por minuto pelo valor médio da eficiência, e o desvio padrão a cada distância é o valor da atividade por minuto. O resultado (DPM) dividido por 60 segundos expressa o valor da atividade em Becquerel (Bq). O valor da eficiência deve ser dividido pelo fator que foi relacionado com o número de desintegrações por minuto (DPM). Este valor é gravado na biblioteca de isótopos do equipamento, juntamente com as características físicas do radionuclídeo (energia, tipo de emissão, meia-vida física), o que permite que o equipamento calcule a eficiência.

Para determinar a atividade de referência, cada fonte foi medida na câmara de padrão secundário do LNMRI 22 vezes durante 1 minuto. As fontes padrões foram medidas nos detectores NaI, câmara de ionização e HPGe, e foi calculada a razão entre a atividade verdadeira e as leituras dos detectores.

Para o detector de iodeto de sódio, foram determinadas as eficiências mudando-se o posicionamento das fontes padrões de ^{177}Lu em relação ao detector (dentro do poço, a 5 cm e a 10 cm). O distanciamento da fonte em relação ao detector foi necessário porque atividades acima de 116 kBq (medida experimental) saturam o detector.

O detector HPGe, que é utilizado em espectrometria gama, acumula as contagens durante o tempo da medição e forma os picos do espectro de radiação de uma amostra. Para determinar a atividade de um radionuclídeo, utiliza-se a área do pico na região da energia do radionuclídeo estudado, divide pelo produto da eficiência do detector naquela faixa de energia, do tempo de contagem e da intensidade de emissões daquela energia gama do radionuclídeo. A curva de eficiência relaciona energia e a eficiência do detector, levando em consideração a geometria e a distância em relação ao detector. Para o cálculo das atividades de ^{177}Lu e ^{131}I foi usada uma curva de eficiência de fonte padrão de ^{133}Ba , com energias 276,40 keV, 302,80 keV, 356,00 keV e 383,80 keV, extrapolando para as energias do ^{177}Lu (208 keV) e ^{131}I (364 keV).

2.5 Avaliação da impureza de $^{177\text{m}}\text{Lu}$ em fontes de ^{177}Lu

O radionuclídeo $^{177\text{m}}\text{Lu}$ possui meia-vida maior que a do ^{177}Lu , respectivamente 160,8 dias e 6,67 dias. A fonte padrão de maior atividade foi medida por 24h no detector HPGe e as emissões de energia características foram utilizadas para determinar a concentração na amostra de ^{177}Lu .

2.6 Avaliação de incertezas dos processos

As incertezas relacionadas ao cálculo da atividade são diferentes para cada equipamento. Na câmara de ionização, a incerteza da atividade se encontra na medida da eficiência do detector (Equação 4):

$$\varepsilon = \frac{n^{\circ} \text{ de contagens medido no detector}}{n^{\circ} \text{ de contagens real}} \quad (\text{Eq. 4})$$

Na câmara de ionização de padrão secundário IG11 do LNMRI, o fator de calibração que é usado para relacionar a corrente gerada no sistema do detector com a atividade real da amostra é dado pela Equação 5:

$$F = \frac{I}{A} \quad (\text{Eq. 5})$$

Sendo I é a intensidade da corrente gerada no sistema do detector e A é a atividade real da fonte.

No detector de HPGe, as incertezas das medidas se encontram na eficiência do detector para a faixa de energia do radionuclídeo e com a emissão do fóton dessa energia. Se todas essas incertezas forem levadas em consideração, é possível garantir a rastreabilidade e a confiabilidade dos resultados.

2.7 Avaliação de diferenças entre densidade do sangue e da água

As características do detector HPGe foram inseridas no software ETNA, incluindo: dimensões e posição do detector; dimensões e posição da blindagem; distância da blindagem ao detector e material da blindagem; curva de eficiência na energia da fonte de ^{133}Ba ; características das fontes líquidas; e dimensões e densidade dos recipientes das fontes. O software forneceu a nova eficiência para fonte com 1,06 g/ml de densidade e a razão entre a eficiência da fonte padrão (densidade 1 g/ml) e a fonte com densidade do sangue (1,06 g/ml).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As atividades de nove fontes de ^{177}Lu e seis fontes de ^{131}I foram medidas com câmara de ionização padrão secundário do LNMRI e comparadas com as atividades estimadas para homem adulto e criança de 5 anos, com a finalidade de avaliar se o planejamento da bioanálise de sangue foi satisfatório. As fontes de ^{177}Lu apresentaram valores muito próximos aos estimados e foi possível avaliar o desempenho dos equipamentos nas ordens de grandeza que podem ser encontradas em bioanálises. O mesmo não aconteceu com três das fontes de ^{131}I e foi preparado um novo lote de fontes padrões.

As médias das atividades para os quatro equipamentos foram semelhantes em um intervalo de confiança de 95%.

As eficiências do detector tipo poço NaI para ^{177}Lu variaram entre 11,54±0,07% e 12,66±0,01%, enquanto que para ^{131}I , as eficiências variaram entre 29,76±0,21 e 30,20±0,04% (Tabela 1). As variações observadas para as eficiências dos equipamentos são devidas às energias dos radionuclídeos, pois não foram alteradas as condições de medição (distância ao detector, tipo de detector, temperatura e BG constantes).

Tabela 1 - Eficiências do detector tipo poço NaI para fontes de ^{177}Lu e ^{131}I .

Radionuclídeo	Atividade (Bq)	Eficiência (%)
^{177}Lu	(1,32±0,07).10 ⁶	12,66±0,01
	(4,48±0,22).10 ⁴	11,54±0,07
^{131}I	(4,66 ±0,05).10 ⁵	30,20±0,04
	(1,64 ±0,02).10 ⁴	29,76±0,21

Os tempos escolhidos para os cálculos de amostragem usados no trabalho estão de acordo com a literatura. Em 2015, LASSMANN estudou 16 pacientes coletando amostras sanguíneas em intervalos de 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 24 h e 48 h após a infusão do ^{177}Lu -DOTATATE. As atividades medidas em contador poço e detector HPGe tiveram o decaimento corrigido para o tempo da coleta. O estudo analisou a contagem de linfócitos após a administração do ^{177}Lu em função da dose absorvida no sangue. Foram observadas diferenças para ^{177}Lu em relação ao ^{131}I . Comparando-se esses resultados com um estudo de pacientes tratados com ^{131}I -NaI para carcinoma de tireoide (LASSMANN, 2011), a dose absorvida no sangue foi maior devido à meia-vida menor do ^{177}Lu no sangue (EBERLEIN, 2015).

Embora a terapia de tireoide com ^{131}I exista há 60 anos, ainda há controvérsias sobre protocolos com atividades fixas ou individualizadas. Entretanto, o pequeno número de estudos de doses absorvidas em medula óssea e corpo inteiro justifica a investigação de métodos mais precisos para bioanálise e quantificação de imagens, para os quais as incertezas associadas aos equipamentos devem ser reduzidas.

O protocolo de terapias com ^{177}Lu usado no país tem atividades fixas. Devido a fatores individuais de cada paciente, isto pode causar diferentes doses absorvidas no tumor e outros órgãos internos interferindo na eficácia do tratamento. Atualmente, países da União Europeia e Estados Unidos consideram a administração de atividades individualizadas com planejamento terapêutico (FEHEY,2014).

As eficiências das câmaras de ionização padrão e Capintec CRC 25-R não foram determinadas para atividades de fontes padrões de ^{177}Lu que simulavam tempos de coleta após 24 h porque foram inferiores às atividades mínimas detectáveis.

A eficiência do detector HPGe usando a curva de eficiência obtida com fontes padrões de ^{133}Ba e $^{166\text{m}}\text{Ho}$ na energia do ^{177}Lu (208,4 keV) foi determinada como (0,235±0,157)%, e na energia do ^{131}I (364,5 keV) foi (0,162±0,00329)%.

Comparando-se os valores absolutos fornecidos pela câmara de ionização padrão secundário com as atividades das fontes padrões de ^{131}I , a câmara de ionização(ativímetro) registrou (105,20±2,65)%, o detector NaI 0,962±0,028% e HPGe (87,08±2,63)% do valor absoluto (Tabela 2). Para as fontes padrões de ^{177}Lu , a câmara de ionização registrou (101,63±4,38%), o detector de NaI(1,51±0,22)%e o HPGe(90,0±3,57)% do valor absoluto (Tabela 2).

A câmara de ionização teve melhor resposta para fontes com atividades até $1,00 \times 10^4\text{Bq}$ (10,0 kBq), sendo recomendado para medição de amostras com atividades de ^{177}Lu coletadas até 24 h após administração e ^{131}I coletadas até 96h da administração. O detector de iodeto de sódio saturou para atividades acima de $3,51 \times 10^4\text{Bq}$ (35,1 kBq). Com o HPGe só foi possível realizar as medidas abaixo de $3,51 \times 10^4\text{Bq}$ (35,1 kBq), constatando-se que o equipamento serve para medir amostras coletadas com ^{177}Lu até 24h para e ^{131}I até 96h.

Tabela 2 – Razões das atividades (%) da câmara de ionização (ativímetro), iodeto de sódio e HPGe em relação à câmara de padronização padrão por radionuclídeos.

Radionuclídeo	Equipamentos		
	C.I. _{ativímetro} /C.I. _{padrão}	NaI/C.I. _{padrão}	HPGe/C.I. _{padrão}
^{131}I	(105,20±2,65)%	(0,962±0,028)%	(87,08±2,63)%
^{177}Lu	(101,63±4,38)%	(1,51±0,22)%	(90,90±3,57)%

Os resultados obtidos com o software ETNA demonstraram que não houve diferenças na eficiência no detector HPGe entre densidade de água (1 g/ml) e sangue (1,06 g/ml) (Tabela 3).

Tabela 3 - Comparação em eficiência do HPGe para fonte de referência de Ba-133 para densidade de água e sangue por energias (keV).

Energia (keV)	Eficiências por densidade		Razão de eficiências (e_c/e_m)
	1 g/ml	1,06 g/ml	
276,00	0,884	0,884	1,00
302,00	0,834	0,834	1,00
356,00	0,761	0,761	1,00
383,00	0,732	0,732	1,00

CONCLUSÕES

Neste trabalho, foram relacionadas as incertezas das medições dos equipamentos para dosimetria em bioanálise de sangue. As impurezas de ^{177m}Lu (0,015% da atividade total) encontradas nas fontes padrões não acarretam variações significativas em estimativas de doses absorvidas em órgãos.

Para os radionuclídeos ^{177}Lu e do ^{131}I , não foram observadas diferenças na eficiência do detector de HPGe variando-se densidades de água e sangue, o que pode validar a simulação de material biológico com as fontes padrões.

A câmara de ionização padrão secundário e a câmara de ionização (ativímetro) CRC 25-R não mediram atividades de fontes padrões de ^{177}Lu que simulavam tempos de coleta após 24h da incorporação porque estas foram inferiores às atividades mínimas detectáveis.

Os detectores com melhor desempenho para bioanálise foram câmara de ionização para amostras coletadas no primeiro dia do procedimento terapêutico (quando se espera as atividades mais altas) e HPGe a partir do segundo dia (atividades mais baixas). Atualmente, como em geral os serviços de medicina nuclear no Brasil possuem somente câmaras de ionização (ativímetros) para procedimentos de rotina, torna-se difícil realizar estudos clínicos com a técnica de bioanálise de sangue.

Os detectores de HPGe não são usados porque são caros, necessitam de um espaço físico razoável para operacionalização, o que é difícil de se conseguir na maioria dos hospitais públicos, e precisam ser resfriados com nitrogênio líquido. Um detector de NaI portátil, como do modelo Genesys Gamma-1, poderia ser uma alternativa financeiramente viável. Recomenda-se comparar o desempenho do modelo de detector de NaI estudado com outros equipamentos de características semelhantes.

Este trabalho demonstrou que, para implantar a dosimetria de medula óssea são necessários: (i) fontes padrões com atividades e geometrias compatíveis com as amostras coletadas; (ii) equipamentos com eficiência e limites de detecção satisfatórios; (iii) metodologia padronizada para que estudos multicêntricos sejam viáveis e os resultados possam ser comparados a fim de aumentar a confiabilidade dos resultados dos estudos clínicos no país.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à equipe do Laboratório Nacional de Metrologia das Radiações Ionizantes do Instituto de Radioproteção e Dosimetria (LNMRI/IRD) pelo apoio técnico e ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN/SP) pelo fornecimento do material radioativo. 92

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERGSMA, H. KONIJNENBERG, M W. BOEN, L R. KAM, J J. TEUNISSEN, M. KOOIJ, P P. DE HERDER, W W. FRANSSEN, G J H. VAN EIJCK, C H J. KRENNING, E P. KWEKKEBOOM, D J. Subacute haematotoxicity after PRRT with ^{177}Lu -DOTA-octreotate: prognostic factors, incidence and course. *Eur J NuclMed Mol Imaging*, 2015.

BIANCARDI, R. 2010, Protocolo para adaptação de técnicas de dosimetria interna para planejamento de doses individualizadas de I-131 em pacientes pediátricos. Dissertação de mestrado, Instituto de Radioproteção e Dosimetria, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

BOLCH, W E. ECKERMAN, K F. SGOUROS, G. THOMAS, S R. MIRD 21: a generalized schema for radiopharmaceuticals dosimetry, standardization of nomenclature. *J Nucl Med* 2009; 50:477-484.

BOUCHET L.G., BOLCH W.E., BLANCO H.P., WESSELS B.W., SIEGEL J.A., RAJON D.A., CLAIRAND I., SGOUROS G. MRD Pamphlet 19: Absorbed fractions and radionuclide S values for six age-dependent multiregion models of the kidney. *J Nucl Med* (2003), 44: 1113-1147.

FEHEY, F. ZOKOTYNSKI, K A. CAPALA, J. Targeted Radionuclide Therapy: Proceedings of a joint workshop hosted by the national cancer institute and the society of nuclear medicine and molecular imaging. *Journal of Nuclear Medicine* . 2014. 55(2) 333-48.

FORRER, F. KRENNING, E P. KOOJI, P P. BERNARD, B F. KONIJNENBERG, M. BAKKER, W, H. TEUNISSEN, J J M. JONG, M de. LOM, K van. HERDER, W W. KWEKKEBOOM, D J. Bone marrow dosimetry in peptide receptor radionuclide therapy with [^{177}Lu -DOTA⁰,Tyr³]octreotate. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (2009) 36(7):1138-1146.

HEDINGER, C. WILLIAMS, E D. SOBIN, L H. Histological typing of thyroid tumours. International histological classification of tumours. World Health Organization, vol 11, Second edition, Springer-Verlag Berlin. 1988.

HINDORF, C. GLATTING, G. CHIESA, C. LINDÉN, O. FLUX, G. EANM Dosimetry Committee guidelines for bone marrow and whole-body dosimetry. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (2010) 37:1238-1250.

KAM, B L . TEUNISSEN, J J. KRENNING, E P. de HERDER W W. KHAN, S. van VLIET E I. KWEKKEBOOM D J. Lutetium-labelled peptides for therapy of neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012 Feb;39Suppl 1:S103-12.

LASSMANN, M. HÄNSCHEID, H. CHIESA, C. EANM Dosimetry Committee series on standard operational procedures for pre-therapeutic dosimetry I: blood and bone marrow dosimetry in differentiated thyroid cancer therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, EANM, 35:1405-1412. 2008.

LASSMANN, M. CHIESA, C. FLUX, G. BARDIÈS, M. EANM Dosimetry Committee guidance document: good practice of clinical dosimetry reporting. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* ,v. 38, n. 1, p. 192-200, 2011.

EBERLEIN U., NOWAK C., BLUEMEL C., BUCK A.K., RUDOLF WERNER A., SCHERTHAN H., LASSMANN M. DNA damage in blood lymphocytes in patients after (^{177}Lu) peptide receptor radionuclide therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, EANM 5 May 2015.

- LUSTER, M. CLARKE, S E. DIETLEIN, M. LASSMAN, M. LIND, P. OYEN, W J. TENNYALL, J. BOMBARDIERI, E. Guidelines for radiiodinetherpy of differentiated thyroid cancer. *EurJNuclMed Mol Imaging*. 2008 Oct;35(10):1941-59.
- REMY, H. BORGET, I. LEBOULLEOUX, S. GUILABERT, N. LAVIELLE, F. GARS, J. BOURNAUD, C. GUPTA, S. SCHLUMBERGER, M. RICARD, M. I-131 Effective Half-Life and Dosimetry in Thyroid Cancer Patients. *J Nucl Med*. 49:1445-1450, 2008
- SANDSTRÖM, M. GARSKE-ROMÁN, U. GRANBERG, D. JOHANSSON, S. WIDSTRÖM, C. ERIKSSON, B. SUNDIN, a. LUNDQVIST, H. LUBBERINK, M. Individualized dosimetry of kidney and bone marrow in patients undergoing therapy with 177Lu-DOTA-D-Phe1-Tyr3-octreotate. *J Nucl Med* 2013; 54:33-41.
- SILBERSTEIN, E B. ALAVI, A. BALON, H R. CLARKE, S E M. DIVGI, C. GELFAND, M J. GOLDSMITH, S J. JADVAR, H. MARCUS, C S. MARTIN, W H. PARKER, J A. ROYAL, H D. SARKAR, S D. STABIN, M. WAXMAN, A D. The SMN Practice Guideline for Therapy of Thyroid Disease with I-131 3.0. *J Nucl Med* 53:1-16. 2012.
- SIEGEL J A, THOMAS S R, STUBBS J B. et al. MIRD Pamphlet n.16: Techniques for quantitative radiopharmaceutical biodistribution data acquisition and analysis for use in human radiation dose estimates. *J Nucl Med* (1999) 40:37S-61S.
- ZAKNUN, J.J. BODEI, L. MUELLER-BRAND, J. PAVEL, M E. BAUM, R P. HÜRSCH, D. O'DORISIO, M S. O'DORISIO, T M. HOWE, J R. CREMONESI, M. KWEKKEBOOM, D J. The joint IAEA, EANM, and SNMMI practical guidance on peptide receptor radionuclide therapy (PRRNT) in neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2013.

LISTA DE PRIMEIROS AUTORES

FIRST-AUTHORS LIST

Araldi I.C.C.	36, 54
Barbezan A.B.	43
Belinato W.	40
Bordin F.P.R.	53
Cabral F.V.	57, 68
Carvalho G.N.P.	46
Cesar A. L. A	28
Costa M.C.	32
Costa, E.V.L.	45
Degenhardt A. L.	44
Durante A.C.R.	20
Fernandes R.S	22
Fernandes T.S.	39, 78
Ferreira I.M.	31
Fuscaldi L.L.	21
Iumatti A.S.F.X.	40
Martins E.B.	35
Monção M.M.	49
Monteiro L.O.F.	23, 26
Moreira-Marconi E.	60
Mota L.G.	62
Moura L.P.	19
Nunes S.S.	27
Oda C. M. R	25
Oliveira A.E.	36
Oliveira M.S.	24
Pedrozo M.G.	33
Ramim J.E.	37
Rossatto-Jr. C.A.	30
Sá-Caputo D.C.	59
Santos T.O.	48
Silva C.R.	56
Silva E.B.	41
Soares A.D.N.	52
Sobral D.V.	29
Sousa K.B.	58
Takenaka I.K.T.M.	50
Thomazi G.O.C.	47
Velasques de Oliveira S.M.	64, 85