



Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**TOXICIDADE AGUDA E SUBAGUDA DO RADIOFÁRMACO
 ^{18}F -FDG**

DANIELLE MAIA DANTAS

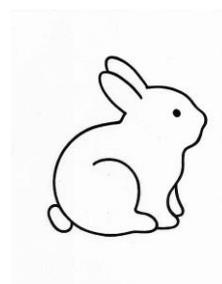
Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientador:

Prof. Dr. João Alberto Osso Júnior

SÃO PAULO

2013



Eu dedico este trabalho a minha família, ao meu querido noivo e aos meus queridos amigos que sempre me inspiraram o melhor.

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a DEUS por direcionar meu caminho ao IPEN. Por ter me dado coragem, força de vontade, saúde e alegria para realização deste trabalho, pois sem ele nada disso teria sido possível.

Também sou muito grata a DEUS, por ter colocado no meu caminho, meu orientador Dr. João Alberto Osso Junior. Tenho profundo sentimento de gratidão ao Johnny, pelo imenso apoio oferecido ao longo destes anos, pelos conhecimentos e experiências compartilhadas, pela paciência, pela sabedoria, amizade, risadas e sustos na salinha. Johnny muito obrigado por sempre me ajudar e acreditar em mim, de coração muito obrigado.

Agradecimento ao IPEN, ao Centro de Radiofarmácia pela oportunidade de realização deste trabalho.

Agradecimento ao meu querido noivo Leonardo Canolla (meu Personal Coach), pelo seu amor, pelo seu carinho, pela sua motivação contagiante, por me ajudar sempre que preciso e por estar comigo em todos os momentos difíceis lembrando sempre quem eu sou.

Aos meus queridos e amados pais Manoel e Consiglia pela vida, educação e pela ajuda nesses anos no IPEN. A minha querida irmã Lívia pelo incentivo. A minha família, em especial minha Tia Elizabeth Dantas e meu Tio Zé Maia por me incentivarem e me indicarem o IPEN. A minha querida sogra Angela Canolla por ter me ajudado e auxiliado a fazer meus trabalhos da pós-graduação, sempre me incentivando.

Ao Pompom, meu coelhinho de estimação que sempre me deu alegria, mas neste trabalho me incentivou ter coragem na hora de manipular os animais com carinho e respeito.

Ao querido amigo Natanael Gomes pela enorme contribuição neste trabalho. Sempre que precisei de sua ajuda, nunca recebi um não, pelo contrário era

recebida com um sorriso, ou melhor, um incentivo e apoio para fazer e refazer o que era necessário.

A querida amiga veterinária Ana Paula Manetta, por sempre me apoiar e ajudar nas melhores decisões. Sempre me recebia em alto astral mesmo estando de licença, me auxiliava na melhor maneira para realizar os testes, lembrando sempre do bem estar dos animais.

As queridas meninas da Biosinteses Dra. Fabiana e M.Sc Tatiana pelas dúvidas, ajuda e também grande contribuição neste trabalho.

Ao Dr. Daniel Perez, do Centro de Biotecnologia, pela realização ensaio do Cometa. Sempre muito atencioso, dedicado e muito paciente, pois depois de muitas tentativas conseguimos acertar o Cometa. A Dra. Kayo Okazaki gostaria também de agradecer pelos seus conhecimentos e a sua aluna M.Sc Flavinha pela ajuda.

A minha querida amiga farmacêutica da faculdade Marina Bertotti pela aquisição de vários produtos utilizados neste trabalho.

Aos amigos que surgiram no IPEN, e me ajudaram muito com cálculos, disciplinas, dúvidas e etc. Obrigado M.Sc Angélica Barbezán, M.Sc Janio Mororó, Dra. Renata Ferreira, Fabíola Ribeiro, M.Sc Larissa Carvalho, M.Sc Aline Bignardi, Angélica Tamião, M.Sc Graciela Barrio, Dra. Carla Dias, M.Sc Tânia Brambilla pela força, apoio, risadas e etc.

Aos funcionários do IPEN em especial a querida M.Sc Marycel Barboza pelas dúvidas e apoio, ao Antônio Freire pela ajuda com os animais, Paulo de compras pela ajuda com a aquisição dos serviços da Lab&Vet, As queridas meninas do Biotério Neide e Mara sempre acessíveis e atenciosas.

Meu agradecimento profundo aos animais utilizados neste trabalho.

A instituição USP e ao IPEN/CNEN que financiou todo o projeto.

“Algo só é impossível até que alguém duvide e acabe provando o contrário”

Albert Einstein

TOXICIDADE AGUDA E SUBAGUDA DO RADIOFÁRMACO ^{18}F -FDG

Danielle Maia Dantas

RESUMO

Antes de se iniciar os estudos clínicos de uma nova droga, é necessário realizar uma bateria de testes de segurança, para avaliar o risco humano. Os radiofármacos como qualquer outra nova droga, devem ser testados levando em conta sua especificidade, duração de tratamento e principalmente a toxicidade de ambas as partes, a molécula não marcada e a sua radioatividade em si, além das impurezas provindas da radiólise. Órgãos regulatórios como o Food and Drug Administration-EUA (FDA) e a Agência de Medicina Européia (EMA), estabelecem guias para a regulamentação de produção e pesquisas de radiofármacos. No Brasil a produção de radiofármacos não era regulamentada até o final de 2009, quando foram estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) as resoluções nº 63, que visa as Boas Práticas de Fabricação de Radiofármacos e a nº 64 que visa o registro do radiofármaco. Para a obtenção do registro de radiofármacos são necessárias a comprovação da qualidade, segurança, eficácia e especificidade do medicamento. Para a segurança dos radiofármacos devem ser apresentados estudos de toxicidade aguda, subaguda e crônica como também a toxicidade reprodutiva, mutagênica e carcinogênica. Hoje o IPEN-CNEN/SP produz um dos radiofármacos mais importantes da medicina nuclear, o ^{18}F -FDG, que é utilizado em muitas aplicações clínicas, em particular no diagnóstico e estadiamento de tumores. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade sistêmica (aguda/subaguda) do radiofármaco ^{18}F -FDG em um sistema teste *in vivo*, conforme preconiza a RDC nº 64, que servirá de modelo para os protocolos de toxicidade dos radiofármacos produzidos no IPEN. Os ensaios realizados foram: os testes de toxicidade aguda e de toxicidade subaguda, estudos de biodistribuição do ^{18}F -FDG, ensaio cometa e toxicidade reprodutiva.

Na toxicidade aguda, ratos sadios foram injetados com ^{18}F -FDG e observados durante 14 dias enquanto na toxicidade subaguda os animais foram observados durante 28 dias. Os resultados não mostraram nenhuma evidência de toxicidade na exposição ao ^{18}F -FDG na toxicidade aguda e na subaguda. A biodistribuição demonstrou resultados semelhantes aos da literatura, onde a bexiga é o órgão que mais recebe radiação. O ensaio cometa mostrou que a radiação do radiofármaco não foi significativa para gerar danos no DNA. Na toxicidade reprodutiva, casais de ratos expostos ao ^{18}F -FDG geraram filhotes completamente normais e saudáveis. Por fim, o ^{18}F -FDG não evidenciou nenhuma toxicidade.

ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY OF ^{18}F -FDG

Danielle Maia Dantas

ABSTRACT

Before starting clinical trials of a new drug, it is necessary to perform a battery of safety tests for assessing human risk. Radiopharmaceuticals like any new drug must be tested taking into account its specificity, duration of treatment and especially the toxicity of both parties, the unlabeled molecule and its radionuclide, apart from impurities emanating from radiolysis. Regulatory agencies like the Food and Drug Administration - USA (FDA) and the European Medicine Agency (EMA), establish guidelines for the regulation of production and research of radiopharmaceuticals. In Brazil the production of radiopharmaceuticals was not regulated until the end of 2009, when were established by the National Agency for Sanitary Surveillance (ANVISA) resolutions No. 63, which refers to the Good Manufacturing Practices of Radiopharmaceuticals and No. 64 which seeks the registration of record radiopharmaceuticals. To obtain registration of radiopharmaceuticals are necessary to prove the quality, safety, efficacy and specificity of the drug. For the safety of radiopharmaceuticals must be presented studies of acute toxicity, subacute and chronic toxicity as well as reproductive, mutagenic and carcinogenic. Nowadays IPEN-CNEN/SP produces one of the most important radiopharmaceutical of nuclear medicine, the ^{18}F -FDG, which is used in many clinical applications, particularly in the diagnosis and staging of tumors. The objective of this study was to evaluate the systemic toxicity (acute/subacute) radiopharmaceutical ^{18}F -FDG in an *in vivo* test system, as recommended by the RDC No. 64, which will serve as a model for protocols toxicity of radiopharmaceuticals produced at IPEN. The following tests were performed: tests of acute and subacute toxicity, biodistribution studies of ^{18}F -FDG, comet assay and reproductive toxicity. In acute toxicity, healthy rats were injected

with ^{18}F -FDG and observed for 14 days while in subacute toxicity animals were observed for 28 days. The results showed no evidence of toxicity at exposure ^{18}F -FDG in acute and subacute toxicity. The biodistribution showed similar results to the literature, where the bladder is the organ that receives the most radiation. The comet assay showed that the radiation from the radiopharmaceutical was not significant to generate DNA damage. In reproductive toxicity in coupled rats exposed to ^{18}F -FDG generated completely normal and healthy puppies. Finally, the ^{18}F -FDG did not show any toxicity.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	23
1.1 Rádiofarmacos.....	23
1.2 Regulamentação para radiofarmacos.....	24
1.3 Ensaios de Toxicidade para radiofarmacos.....	26
1.4 Radiofarmacos no IPEN-CNEN/SP – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Comissão Nacional de Energia Nuclear	27
1.5 Fluorodeoxiglicose – ¹⁸ Flúor (¹⁸ F-FDG).....	29
1.6 Toxicidade do Fluorodeoxiglicose – ¹⁸ Flúor (¹⁸ F-FDG).....	33
2. OBJETIVO.....	36
2.1 JUSTIFICATIVA.....	36
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
3.1 Infraestrutura e Equipamentos.....	38
3.2 Materiais e Reagentes.....	38
3.3 Estudos Realizados.....	39
3.3.1 Avaliação da dose injetada de ¹⁸ FDG.....	39
3.3.2 Estudos de Toxicidade Aguda.....	40

3.3.2.1	Análise dos parâmetros dos testes de toxicidade aguda.....	43
3.3.2.2	Análise dos resultados dos testes de toxicidade aguda.....	44
3.3.3	Estudos de Toxicidade Subaguda.....	44
3.3.3.1	Análise dos parâmetros dos testes de toxicidade subaguda.....	46
3.3.3.2	Análise dos resultados dos testes de toxicidade subaguda.....	48
3.3.4	Ensaio de biodistribuição do ¹⁸ F- FDG e imagens no microPET.....	48
3.3.5	Ensaio de fragmentação de DNA por análise de “cometas”	49
3.3.6	Estudos de Toxicidade Reprodutiva.....	52
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	55
4.1	Avaliação da dose injetada de ¹⁸ F- FDG.....	55
4.2	Estudos de Toxicidade Aguda.....	55
4.2.1	Peso Corpóreo.....	55
4.2.2	Consumo de Água.....	60
4.2.3	Sinais Clínicos.....	62
4.2.4	Necropsia.....	63
4.2.5	Histopatológico.....	64
4.3	Estudos de Toxicidade Subaguda.....	70
4.3.1	Peso Corpóreo.....	70
4.3.2	Consumo de Água e Ração.....	75
4.3.3	Sinais Clínicos.....	79
4.3.4	Necropsia.....	79
4.3.5	Histopatológico.....	81
4.3.6	Hemograma.....	97

4.3.7	Função Hepática (ALT).....	100
4.3.8	Função Renal (Creatinina).....	101
4.4	Ensaio de biodistribuição do ¹⁸ F- FDG e imagens no microPET.....	103
4.5	Ensaio de fragmentação de DNA por análise de “cometas”.....	109
4.6	Estudos de Toxicidade Reprodutiva.....	110
5.	CONCLUSÕES.....	116
	ANEXO A – Laudos Toxicidade Aguda.....	118
	ANEXO B – Laudos Toxicidade Subaguda.....	134
	ANEXO C - Laudo Parasitológico.....	158
	ANEXO D – Aprovação do Comitê de Ética.....	160
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	161

Lista de Tabelas

	Página
TABELA 1. Dose absorvida por atividade administrada de ^{18}F -FDG (mGy/MBq) para humanos.....	34
TABELA 2. Protocolo da Toxicidade Aguda.....	41
TABELA 3. Parâmetros clínicos usados como referência para qualificação da toxicidade sistêmica.....	42
TABELA 4. Número de caixas de ratos e seus grupos correspondentes.....	43
TABELA 5. Protocolo da Toxicidade Subaguda.....	45
TABELA 6. Número de caixas de ratos e seus grupos correspondentes.....	46
TABELA 7. Características dos animais utilizados na biodistribuição e no ensaio cometa.....	48
TABELA 8. Características dos animais utilizados no estudo de toxicidade reprodutiva.....	53
TABELA 9. Casais de ratos mantidos por caixa.....	53
TABELA 10. Animais encaminhados para a necropsia e histopatologia.....	63
TABELA 11. Achados encontrados na necropsia realizada nos grupos de estudo da toxicidade aguda, com 4 animais o grupo controle, e 2 animais cada o grupo de 100X e de 1000X.....	64
TABELA 12. Laudo histopatológico das lâminas dos órgãos alvos, coração, fígado, rins, bexiga e cérebro de cada grupo de animais da toxicidade aguda.....	65
TABELA 13. Achados encontrados na necropsia realizada nos grupos de estudo da toxicidade subaguda, com 6 animais cada.....	80
TABELA 14. Laudo histopatológico das lâminas dos órgãos alvos, coração,	

fígado, rins, bexiga e cérebro de cada grupo de animais da toxicidade subaguda..... 82

TABELA 15. Valores das médias \pm erros padrão da média para os Hemogramas dos grupos controle, glicose, 100X e 1000X das fêmeas, machos e população da toxicidade subaguda em comparação com as referências 1 e 2..... 98

TABELA 16. Valores das médias \pm erro padrão da média, para ALT dos grupos controle, glicose 100X e de 1000X, em comparação com o grupo controle, Referência 1 e Referência 2.....100

TABELA 17: Valores das médias \pm erro padrão da média, para Creatinina dos grupos controle, glicose 100X e de 1000X, em comparação com o grupo controle, Referência 1 e Referência 2.....102

TABELA 18. Porcentagem de dose de atividade injetada de ^{18}F -FDG, após 30 minutos, nos órgãos alvos na biodistribuição e na imagem.....104

TABELA 19. Porcentagem de dose de atividade injetada de ^{18}F -FDG por gramas de cada órgão na biodistribuição e porcentagem de atividade de ^{18}F -FDG em cm^3 de cada órgão, no estudo de imagem, após 30 minutos, nos órgãos alvos.....105

TABELA 20. Dose absorvida por atividade administrada de ^{18}F -FDG (mGy/MBq) em humanos106

Lista de Figuras

	Página
FIGURA 1: Imagens (A) ciclotron IPEN e (B) módulo de síntese ^{18}F -FDG	31
FIGURA 2: Imagem Síntese do ^{18}F -FDG.....	31
FIGURA 3: Imagem do metabolismo intracelular do ^{18}F -FDG.....	32
FIGURA 4: Representação de níveis de danos radioinduzidos crescentes através da visualizada e comprimento da cauda do teste cometa.....	52
FIGURA 5: Variação de peso em porcentagem das fêmeas dos grupos controle, 100X e 1000X durante 15 dias, na toxicidade aguda.....	56
FIGURA 6: Média de ganho de peso das fêmeas em gramas, na toxicidade aguda.....	57
FIGURA 7: Variação de peso em porcentagem das fêmeas dos grupos controle, 100X e 1000X durante 15 dias, na toxicidade aguda.....	58
FIGURA 8: Média de ganho de peso dos machos em gramas, na toxicidade aguda.....	59
FIGURA 9: Variação de peso em porcentagem dos grupos controle, glicose, 100X e 1000X durante 28 dias, na toxicidade subaguda.....	59
FIGURA 10: Consumo de água diário em mL das caixas, com as fêmeas do grupo controle, 100X e 1000X, durante 15 dias, na toxicidade aguda.....	60

FIGURA 11: Consumo de água diário em mL das caixas, com os machos do grupo controle, 100X e 1000X, durante 15 dias, na toxicidade aguda.....	61
FIGURA 12: Consumo diário de água em mL da população de animais da toxicidade aguda.....	62
FIGURA 13: Lâminas da musculatura esquelética do coração e vasos visualizada do grupo controle (fêmea) em comparação com as lâminas das fêmeas dos grupos 100X e 1000X.....	66
FIGURA 14: Lâminas dos fígados grupo controle, 100X e 1000X.....	67
FIGURA 15: Lâminas dos rins, glomérulos e congestão difusa grave nos grupos controle, 100X e de 1000X.....	68
FIGURA 16: Lâminas da bexiga, epitélio estratificado com células descamando e camadas musculares lisas, nos grupos controle (1 e 2), 100X e 1000X.....	69
FIGURA 17: Lâminas dos cérebros, neurônios, matriz celular e vasos sanguíneos com uma congestão difusa moderada, nos grupos controle, 100X e 1000X.....	70
FIGURA 18: Variação de peso em porcentagem das fêmeas dos grupos controle, glicose, 100X e 1000X durante 28 dias, na toxicidade subaguda.....	71
FIGURA 19: Média de ganho de peso das fêmeas em gramas, na toxicidade subaguda.....	72
FIGURA 20: Variação de peso em porcentagem dos machos dos grupos controle, glicose, 100X e 1000X durante 28 dias, na toxicidade subaguda.....	73
FIGURA 21: Média de ganho de peso dos machos em gramas, na toxicidade subaguda.....	74
FIGURA 22: Variação de peso em porcentagem dos grupos controle, glicose, 100X e 1000X durante 28 dias, na toxicidade subaguda.....	74

FIGURA 23: Consumo de água diário em mL das caixas, com as fêmeas do grupo controle, glicose, 100X e 1000X, durante 28 dias, na toxicidade subaguda.....	75
FIGURA 24: Consumo de ração diário em gramas das caixas com fêmeas do grupo controle, glicose, 100X e 1000X, durante 28 dias, na toxicidade subaguda.....	76
FIGURA 25: Consumo de água diário em mL das caixas, com machos do grupo controle, glicose, 100X e 1000X, durante 28 dias, na toxicidade subaguda.....	77
FIGURA 26: Consumo de ração diário em gramas das caixas com machos do grupo controle, glicose, 100X e 1000X, durante 28 dias, na toxicidade subaguda.....	78
FIGURA 27: Consumo de água diário em mL das caixas das populações do grupo controle, glicose, 100X e 1000X, durante 28 dias, na toxicidade subaguda.....	78
FIGURA 28: Consumo de ração diário em gramas das caixas das populações do grupo controle, glicose, 100X e 1000X, durante 28 dias, na toxicidade subaguda.....	79
FIGURA 29: Lâminas da Musculatura esquelética do coração e vasos sanguíneos da fêmea do grupo controle em comparação com as lâminas das fêmeas dos grupos glicose, 100X e 1000X.....	83
FIGURA 30: Lâminas da musculatura esquelética do coração e vasos sanguíneos do macho do grupo controle em comparação com as lâminas dos machos dos grupos glicose, 100X e 1000X.....	84
FIGURA 31: Lâminas da musculatura esquelética do coração e vasos sanguíneos normais do macho do grupo controle em comparação com a lâmina do único rato do grupo glicose.....	84

FIGURA 32: Lâminas da musculatura esquelética do coração e vasos sanguíneos normais do macho do grupo controle em comparação com a lâmina do único rato do grupo de 100X.....	85
FIGURA 33: Lâminas dos fígados, espaço porta com infiltrado de linfócitos, nos grupos controle, glicose e 100X.....	86
FIGURA 34: Lâminas dos fígados, espaço porta com infiltrado de linfócitos e anisocariose nos grupos controle, glicose e 100X.....	86
FIGURA 35: Lâminas dos fígados, espaço porta com infiltrado de linfócitos, congestão difusa moderada, degeneração vacuolar e anisocariose nos grupos controle, glicose, 100X e de 1000X.....	87
FIGURA 36: Lâminas dos fígados, espaço porta com infiltrado de neutrófilos, nos grupos glicose e 100X.....	88
FIGURA 37: Lâminas dos fígados, espaço porta com infiltrado de linfócitos, congestão difusa moderada e degeneração vacuolar nos grupos glicose e de 100X.....	88
FIGURA 38: Lâmina do fígado, espaço porta com infiltrado de linfócitos, no grupo de 100X.....	89
FIGURA 39: Lâminas dos rins, glomérulos, túbulos renais com discreta autólise e congestão difusa moderada, nos grupos controle, glicose e de 1000X.....	90
FIGURA 40: Lâminas dos rins, glomérulos, túbulos renais com discreta autólise e deposição de material basófilo, congestão difusa moderada, nos grupos controle, glicose e de 100X.....	91
FIGURA 41: Lâminas dos rins, glomérulos, túbulos renais com autólise discreta, descamação discreta e deposição de material basófilo, congestão difusa moderada, nos grupos glicose e de 100X.....	91

FIGURA 42: Lâminas dos rins, glomérulos, túbulos renais com autólise discreta e descamação discreta e congestão difusa moderada, nos grupos 100X e de 1000X.....	92
FIGURA 43: Lâmina do rim, glomérulos, túbulos renais com autólise discreta e dilatação dos túbulos medulares com material amorfo eosinófilo e congestão difusa moderada no grupo 100X.....	93
FIGURA 44: Lâmina do rim, glomérulos, túbulos renais com autólise discreta e descamação discreta nos grupos 100X.....	93
FIGURA 45: Lâminas da bexiga, epitélio estratificado e camadas musculares lisas, completamente dentro da normalidade nos grupos controle, glicose, 100X e 1000X.....	94
FIGURA 46: Lâminas da bexiga, epitélio estratificado com células descamando e camadas musculares lisas, nos grupos controle, glicose, 100X e 1000X.....	95
FIGURA 47: Lâminas dos cérebros, neurônios, matriz celular e vasos sanguíneos completamente normais, nos grupos controle, glicose, 100X e 1000X.....	96
FIGURA 48: Lâminas dos cérebros, neurônios, matriz celular e vasos sanguíneos com uma congestão difusa discreta, nos grupos controle, 100X e 1000X.....	96
FIGURA 49: Imagem do rato em 30 minutos de captação do ¹⁸ F-FDG. Nesta imagem é possível observar a alta captação pelo cérebro e bexiga.....	107
FIGURA 50: Imagem do rato em 30 minutos de captação do ¹⁸ F-FDG. Nesta imagem é possível observar a alta captação pelo cérebro, bexiga e tecido adiposo (gordura marrom).....	107
FIGURA 51: Imagem do rato em 30 minutos de captação do ¹⁸ F-FDG. Nesta imagem é possível observar a alta captação pelo cérebro, bexiga, coração no corte sagital, fígado e rins no corte coronal.....	108

FIGURA 52: Imagem do rato em 30 minutos de captação do ^{18}F -FDG. Nesta imagem é possível observar a alta captação pelo cérebro, bexiga, e coração mais aparente no corte sagital.....	108
FIGURA 53: Lâminas controle e experimentais, predomínio de células classe 0, no ensaio cometa.....	109
FIGURA 54: Os valores de índice radioinduzido encontrados pré e pós exposição ao ^{18}F -FDG circulante nos animais testados foram comparados por teste-t (<i>Student</i>).....	110
FIGURA 55: Casais de ratos formados e suas respectivas proles.....	111
FIGURA 56: Imagens dos 3 filhotes recém-nascidos no dia 28/03/2013 e sua mãe.....	112
FIGURA 57: Imagens dos filhotes após 1 semana apresentam o aparecimento de pelos. Na segunda figura 2 semanas após o nascimento, os filhotes já abriram os olhos e mostram as orelhas já formadas.....	112
FIGURA 58: Primeira imagem representa os filhotes com 4 semanas de vida. E a segunda imagem apresenta os filhotes com 50 dias, completamente saudáveis.....	113
FIGURA 59: A primeira imagem mostra os 8 filhotes recém-nascidos no dia 25/03/2013. A segunda imagem os filhotes um dia depois do nascimento com a mãe.....	113
FIGURA 60: Os 8 filhotes após uma semana, já apresentavam o aparecimento de pelos. Na segunda imagem após 2 semanas as orelhas já formadas e com os olhos ainda fechados.....	114

FIGURA 61: Na primeira imagem os filhotes na terceira semana de vida, já ativos com os olhos abertos. E na segunda imagem os filhotes com 50 dias, completamente normais.....114

FIGURA 62: A duas imagens mostram os 8 filhotes nascidos no dia 25/03/2013, todos vivos com a mãe.....115

Lista de Abreviaturas

ALAT - Alanina Aminotransferase

ALT - Alanina Transaminase

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPF – Boas Práticas de Fabricação

CB – Centro de Biotecnologia

CFR – Code of Federal Regulations

CNEN - Comissão Nacional de Energia Nuclear

CR – Centro de Radiofarmácia

CT – Tomografia Computadorizada

EMA - Agência de Medicina Européia

FDA – Food and Drug Administration

¹⁸F-FDG – ¹⁸Flúor-Flúordeoxiglicose

IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

LD₅₀ – Dose Letal 50%

NOAEL - No Observed Adverse Effect Level

PET – Positron Emission Tomography/ Tomografia por Emissão de Póstrons

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SGPT – Transaminase Glutâmica Pirúvica Sérica

¹⁵³Sm EDTMP – ¹⁵³Samário Fosfato de Etilenodiaminotetrametileno

SPECT – Single Photon Emission Computed Tomography/ Tomografia Computadorizada por emissão de fóton único

TGP – Transaminase Glutâmica Pirúvica Sérica

USP – Universidade de São Paulo

1. INTRODUÇÃO

1.1 Radiofármacos

Radiofármaco é um composto radioativo utilizado para diagnóstico e para tratamento de doenças humanas. Na medicina nuclear aproximadamente 95% dos radiofármacos são destinados ao diagnóstico, enquanto o restante é utilizado na terapia ^[1].

A ação da maioria dos radiofármacos é derivada de dois componentes: um componente não radioativo (um carregador) e um componente radioativo (radionuclídeo) ^[1]. O carregador pode ser uma molécula orgânica, inorgânica, peptídeos, anticorpos e células ^[2], que irá dirigir o radionuclídeo a um órgão específico ou a um processo fisiológico, onde o componente radionuclídico poderá ser detectado por um equipamento nuclear ou terá ação terapêutica ^[1]. O radionuclídeo refere-se apenas ao átomo radioativo, como por exemplo, ¹⁸F e ¹³¹I ^[3].

Os mecanismos que promovem a ligação do radiofármaco ao sítio alvo podem ser diversos, envolvendo uma simples perfusão sanguínea do composto pelo órgão de interesse, até uma ligação a receptores celulares específicos ou participação em uma via metabólica ou processo bioquímico ^[4].

Os radiofármacos para serem utilizados na medicina nuclear, devem apresentar segurança e serem não tóxicos para a administração em humanos ^[3,5]. A radiação emitida pelo radionuclídeo de escolha, deve ser de fácil detecção para o equipamento nuclear e também sua dose deve ser mínima para o paciente exposto, no caso de aplicação diagnóstica ^[1].

No diagnóstico, os radiofármacos são utilizados para adquirir imagens, identificar estruturas internas ou um processo de doença. Existem duas técnicas para a obtenção de imagem, a técnica PET (Positron Emission Tomography) – Tomografia por emissão de pósitrons e a técnica SPECT

(Single Photon Emission Computed Tomography) – Tomografia Computadorizada por emissão de fóton único.

A técnica PET é um método de diagnóstico que cria imagens tridimensionais através da aniquilação de pósitrons (β^+) com elétrons, que irão dar origem a dois fótons, de 511 keV captados em coincidência pelo equipamento. Exemplos de radioisótopos utilizados neste diagnóstico são, ^{11}C , ^{13}N , ^{18}F , ^{64}Cu , e ^{68}Ga . Na técnica SPECT o equipamento utilizado é uma gama-câmara, que permite a obtenção de imagens também tridimensionais, só que o radioisótopo a ser utilizado deve ser emissor de raios gama. Exemplos de radioisótopos utilizados são, ^{67}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{123}I e ^{131}I [3].

Na terapia, os radiofármacos são mais utilizados para o tratamento contra o câncer, mas também apresentam aplicação no tratamento de artrite, hipertiroidismo e tratamento paliativo de dor de metástase óssea. Eles possuem alta especificidade sobre o tecido cancerígeno e têm como objetivo a ionização da massa tumoral. Os radioisótopos devem emitir partículas β^- , α ou elétrons Auger, para promover a destruição das células em alcance curto, evitando a irradiação de tecidos saudáveis [6]. Exemplos de radioisótopos utilizados na terapia são: ^{131}I , ^{177}Lu , ^{153}Sm , ^{90}Y e ^{188}Re .

1.2 Regulamentação para radiofármacos

Os radiofármacos devem ser produzidos de acordo com os princípios básicos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) para radiofármacos conforme recomendado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) [7]. Boas Práticas de Fabricação é um sistema que visa garantir que todos os fármacos sejam produzidos e controlados de acordo com os padrões de qualidade, oferecendo segurança aos consumidores finais [2].

Nos Estados Unidos as BPF fazem parte do Code of Federal Regulations (CFR) e são publicadas pelo Food and Drug Administration (FDA). Desde 1975 a regulamentação dos radiofármacos é promovida pelo FDA, sendo classificados como droga ou produto biológico [4].

A liberação dos radiofármacos para o uso humano funciona de forma parecida com as outras drogas, onde devem passar por testes pré-clínicos e clínicos, desenvolvimento de processo de fabricação e controles de qualidade para a obtenção das BPF, sob a investigação e aprovação do Radioactive Drug Research Committee (comitê direcionado a estabelecer segurança da radiação e dosimetria) e do FDA ^[1]. Para isso, desde 1984 o FDA estabelece resoluções específicas para a regulamentação e condução de produção e pesquisas para radiofármacos, através dos guias de base (guidelines) ^[8].

A Agência de Medicina Européia (EMA) adotou duas diretivas em 1991 para regulamentar as BPF: drogas de uso humano e drogas de uso animal. Nestas diretrizes existe o anexo 3 que se refere à aplicação das BPF na produção, instalação e equipamentos, estudos clínicos e toxicidade para a fabricação de radiofármacos ^[2].

A Associação Européia de Medicina Nuclear elaborou um guia de BPF para a produção de radiofármacos, auxiliando na regulamentação destes ^[2].

As regulamentações estabelecidas pelo FDA e pela EMA exercem grande influência mundial e são referências para outras agências no mundo como também no Brasil.

No Brasil, a ANVISA tem sua própria regulamentação. Até o final de 2009 não existia regulamentação específica voltada para radiofármacos. Um grupo de trabalho formado pela ANVISA e pelo IPEN foi criado no final de 2006, com intuito de elaborar uma regulamentação específica para a produção e registro de radiofármacos ^[9].

Ao final de 2009 foram publicadas as resoluções da diretoria colegiada nº 63 e nº 64 atribuídas aos radiofármacos. A RDC nº 63 dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Radiofármacos, estabelecendo requisitos mínimos a serem cumpridos, visando a obtenção de um radiofármaco dentro dos padrões de qualidade ^[7]. Já a RDC nº 64 estabelece os requisitos para o processo de registro de radiofármacos no país, visando garantir a qualidade, segurança e eficácia deste medicamento ^[10].

Pelo fato do IPEN e outras instituições já produzirem radiofármacos no Brasil antes da publicação destas resoluções, esses radiofármacos foram considerados como consagrados, não requerendo a realização de ensaios pré-clínicos e clínicos para registro, somente referências bibliográficas para a comprovação de segurança e eficácia.

1.3 Ensaios de Toxicidade para radiofármacos

Produtos radiofarmacêuticos que são administrados em quantidades que excedam os limites de uma microdose em massa ou que são destinados a várias administrações, têm que atender completamente as exigências de estudos de segurança de ensaios não clínicos – estudos pré-clínicos *in vitro* e *in vivo* – como qualquer substância ativa antes de ser utilizada em ensaios clínicos com humanos ^[11].

É proposta na resolução nº 64, a comprovação da segurança dos radiofármacos novos para registro. O processo de registro do radiofármaco deve apresentar relatórios pré-clínicos de toxicidade aguda, subaguda e crônica, toxicidade reprodutiva, atividade mutagênica e potencial carcinogênico de acordo com a legislação ^[10].

Estes ensaios de toxicidade pré-clínicos tem como objetivos determinar:

- ❖ Toxicidade aguda, subaguda e crônica ^[10] – a determinação dos efeitos tóxicos decorrentes de uma determinada dose e tempo de exposição do radiofármaco ^[12]. Parâmetros como peso corpóreo, consumo de água e ração, patologia clínica e investigações de necropsias e histopatológicas são avaliadas ^[13].
- ❖ Toxicidade reprodutiva ^[10] – a análise da fertilidade, gestação, nascimento e pós-natal dos animais expostos, incluindo função materna ^[12].
- ❖ Atividade mutagênica ^[10] – a avaliação das possíveis modificações no material genético, podendo ser transmitidas hereditariamente ^[12]. Geralmente são testes realizados *in vitro* e *in vivo* como testes de mutação genética em bactéria, aberração cromossômica e micronúcleo. ^[13].

❖ Potencial carcinogênico ^[10] – atestando por longos períodos de exposição o aparecimento ou não de tumores ^[12]. Os animais são expostos a maior dose tolerada, durante 18 a 24 meses de observações para investigações minuciosas de necropsia e histopatologia ^[13].

Assim após estes ensaios, é dada a continuação nos estudos clínicos em humanos, onde são exigidos ensaios de fase I, II e III realizados com o produto que é objeto do registro, acompanhado de referências bibliográficas quando disponíveis. Os estudos devem atender aos requisitos de acurácia, especificidade e sensibilidade para os radiofármacos ^[10].

Todos esses ensaios devem estar sob anuência prévia da ANVISA e autorização pela CNEN (Comissão Nacional de Energia Nuclear) ^[10].

Para desenvolver estes ensaios a ANVISA apresenta um guia para a realização de testes pré-clínicos baseado nos guias de toxicidade do FDA e EMEA ^[12]. No caso dos estudos clínicos, devem ser conduzidos sob o guia de Boas Práticas Clínicas, que é um padrão de qualidade científica e ética internacional com princípios que tem origem na Declaração de Helsinki, para o desenho, condução, registro e relato de estudos que envolvam a participação de seres humanos ^[14].

1.4 Radiofármacos no IPEN-CNEN/SP – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Comissão Nacional de Energia Nuclear

O IPEN iniciou as atividades de produção de radioisótopos para uso na medicina nuclear em 1959, introduzindo o ¹³¹I usado para diagnóstico e terapia de doenças da tireóide, Isto foi fundamental para a viabilização e consolidação da Medicina Nuclear no país ^[15].

No início da década de 80 o IPEN estabeleceu um programa de desenvolvimento e iniciou os trabalhos experimentais com ⁹⁹Mo importado do Canadá. Em 1981, iniciou o atendimento a hospitais e clínicas do país com geradores de ⁹⁹Mo-^{99m}Tc, preparados com tecnologia nacional, atendendo uma demanda inicial de 10 geradores por semana. Esta

demanda tem crescido anualmente e atingiu em 2013 a marca de 380 geradores distribuídos por semana [15].

Outros radiofármacos foram desenvolvidos, produzidos e distribuídos pelo IPEN, como o cloreto de ^{201}Tl , para estudo da viabilidade cardíaca, o citrato de ^{67}Ga para diagnóstico de tumores específicos e pesquisa de focos de inflamação e infecção, a Metaiodobenzilguanidina marcada com ^{131}I e ^{123}I , utilizada, respectivamente, na terapia e diagnóstico de feocromocitomas e neuroblastomas, além do ^{153}Sm -EDTMP que age como paliativo das dores provenientes de metástases ósseas de câncer de próstata e de mama, entre outros [2].

Em 1999 foi iniciada a produção e distribuição de Fluorodeoxiglicose – ^{18}F (^{18}F -FDG) para estudo da viabilidade miocárdica e localização de tumores, com grande aceitação pela classe médica nuclear. O ^{18}F foi o primeiro radioisótopo produzido no país para uso na técnica PET que permite maior sensibilidade nas imagens obtidas e diagnósticos mais precisos [2].

Também em 1999, as atividades de produção e distribuição de radiofármacos obtiveram a recomendação à certificação ISO 9002 por meio de um programa de qualidade. Em 2002, dando continuidade ao programa, a Radiofarmácia foi certificada na norma ISO 9001 para o escopo de pesquisa e desenvolvimento, produção, controle de qualidade e comercialização de radioisótopos. Em 2005, conquistou a re-certificação na mesma norma [15].

Em meados de 2006 foi instituída a Subcomissão de Radiofármacos da Farmacopéia Brasileira, incumbida de elaborar as monografias para radiofármacos. No final daquele ano, a ANVISA instituiu um grupo de trabalho para elaborar a regulamentação específica para a produção e registro de radiofármacos e outro grupo para regulamentar o uso de tais produtos na medicina nuclear [2].

O IPEN participou ativamente nestes grupos de trabalho, contribuindo desta forma para a regulamentação da produção e uso de radiofármacos no Brasil [2].

Ao final de 2009, foram publicadas pela ANVISA as resoluções nº 63 e nº 64 para radiofármacos. A meta do Centro de Radiofarmácia do IPEN é a obtenção da certificação de Boas Práticas de Fabricação e o registro dos seus produtos seguindo essas resoluções.

Enquanto não existiam as resoluções nº 63 e nº 64 para radiofármacos, o IPEN procurava seguir os requisitos da resolução nº 210 de 2003 da ANVISA, de Boas Práticas de Fabricação [9].

1.5 Fluorodeoxiglicose –¹⁸Fúor (¹⁸F-FDG)

A primeira síntese do radiofármaco Fluorodeoxiglicose–¹⁸F (¹⁸F-FDG) para estudos em humanos foi em 1976, na Universidade da Pensilvânia e no Laboratório Nacional de Brookhaven, nos Estados Unidos. Ele foi desenvolvido para mapear o metabolismo da glicose em cérebro humano, com propósito de servir como ferramenta para a neurociência. Ao mesmo tempo, em estudos pré-clínicos, o uso do ¹⁸F-FDG foi sugerido para estudos do metabolismo do miocárdio e para o metabolismo de tumores [16], contribuindo para o avanço e desenvolvimento da tomografia por emissão de pósitron (PET) como uma ferramenta indispensável na medicina clínica nuclear [17].

Ao final dos anos 80, a utilidade clínica do ¹⁸F-FDG era demonstrada em pacientes com epilepsia, tumores cerebrais e outras desordens neurológicas. Ao mesmo tempo o desenvolvimento comercial do PET scanner para corpo inteiro era iniciado, enquanto que a tecnologia para PET scanners de cabeça, comuns na época, eram otimizados [18].

Pesquisas clínicas focadas em doenças cardiovasculares e cânceres que afetam o corpo inteiro, estavam em andamento. Quando imagens de corpo inteiro através do PET começaram a se tornar amplamente disponíveis, a técnica PET com o ¹⁸F-FDG se difundiu [18].

O primeiro registro do ¹⁸F-FDG pelo FDA foi em 1994 para utilização em estudos clínicos para diagnóstico de epilepsia e comercialização. Em 2005 o FDA aprovou o registro para comercialização para doenças cardiovasculares, tumores e doenças neurológicas. Antes disso o ¹⁸F-FDG

já era utilizado para essas finalidades, mas só tinha aprovação para estudos clínicos [19].

O ^{18}F -FDG apresenta muitas aplicações clínicas na medicina nuclear, como o diagnóstico de tumores benignos e malignos, no estadiamento e graduação da doença maligna, monitoração e alterações induzidas pelo tratamento. As principais patologias diagnosticadas com ^{18}F -FDG são o carcinoma pulmonar, carcinoma colorretal, melanoma maligno, linfoma, carcinoma de mama, Alzheimer, demência, tumores cerebrais, outros tumores malignos diversos e também a perda de função e metabolismo do miocárdio [3,18,19].

Atualmente ^{18}F -FDG é o radiofármaco mais utilizado em PET, contribuindo para mais de 90% dos estudos [20].

O flúor-18 é um radionuclídeo com meia-vida física de 110 minutos e decai por emissão de pósitrons (radiação β^+), adequado para a obtenção de imagens PET. Ele é produzido em Cíclotron (acelerador de partículas) (FIG.1A), através da irradiação de água enriquecida (H_2^{18}O) com prótons, pela reação nuclear $^{18}\text{O} (p,n) ^{18}\text{F}$ [4,16]. No final desta irradiação a água irradiada contendo o flúor-18 (^{18}F) é transferida diretamente para um módulo de síntese automatizado (FIG.1B), onde ocorrerá a síntese da molécula 2-fluor-2-deoxi-D-glicose (FDG) marcada com ^{18}F através da substituição nucleofílica utilizando manose triflática como precursor [21]. A marcação ocorre durante 25 minutos e seu rendimento final é de 55%. Neste sistema as impurezas são retidas automaticamente por meio de cartuchos apropriados. O resultado é o ^{18}F -FDG purificado, neutro e estéril, pronto para ser administrado em pacientes [4,16,21].



(A)

(B)

FIGURA 1: (A) Cíclotron Cyclone-30 IPEN e (B) módulo de síntese do ^{18}F -FDG.

A molécula 2-fluor-2-deoxi-D-glicose (FDG) (3) é derivada da própria molécula de glicose (1), onde é retirada a hidroxila do carbono 2 e em seu lugar se liga o ^{18}F [4,16]. A molécula de triflato de manose (2), precursor da marcação, reage com o complexo do Kriptofix e o ^{18}F a 80°C em solvente de acetonitrila, ocorrendo a fluoração do precursor (2). O ^{18}F se liga no carbono 2, no lugar do triflato. Subsequentemente o FDG é obtido por meio de hidrólise, onde este processo extrai os grupos acetil, produzindo ^{18}F -FDG e transformando em L-Glicose o precursor que não havia reagido [4,22]. (FIG. 2)

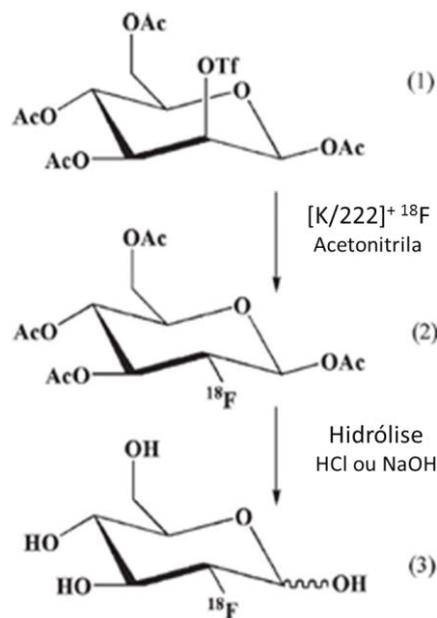


FIGURA 2: Síntese do ^{18}F -FDG, no módulo de síntese.

O comportamento biológico do ^{18}F -FDG também é similar ao da glicose. O radiofármaco ^{18}F -FDG penetra na célula pelo mesmo sistema de transporte que a glicose, e dentro da célula sofre o processo de fosforilação pela hexoquinase se transformando em ^{18}F -FDG-6-fosfato, sofrendo a primeira parte da glicólise. A partir deste ponto ele não pode mais prosseguir no caminho metabólico da glicose, pois a glicose-6-fosfatase não tem ação sobre ^{18}F -FDG-6-fosfato e assim esta molécula fica retida dentro da célula na mesma proporção que a taxa glicolítica da célula (FIG.3). A glicólise acelerada e a diminuição da capacidade de fazer energia aeróbicamente são características das células malignas e células cerebrais. Essas características causam taxas de captação de glicose elevadas, necessárias para manter essas células. A alta captação em uma imagem é geralmente associada a um elevado número de células tumorais viáveis, alta expressão de GLUT1, GLUT3 e GLUT5 (proteínas transportadoras de glicose) e um aumento na atividade de várias enzimas glicolíticas, tais como hexoquinase, fosfofructoquinase e piruvato desidrogenase [3,4,16,23].

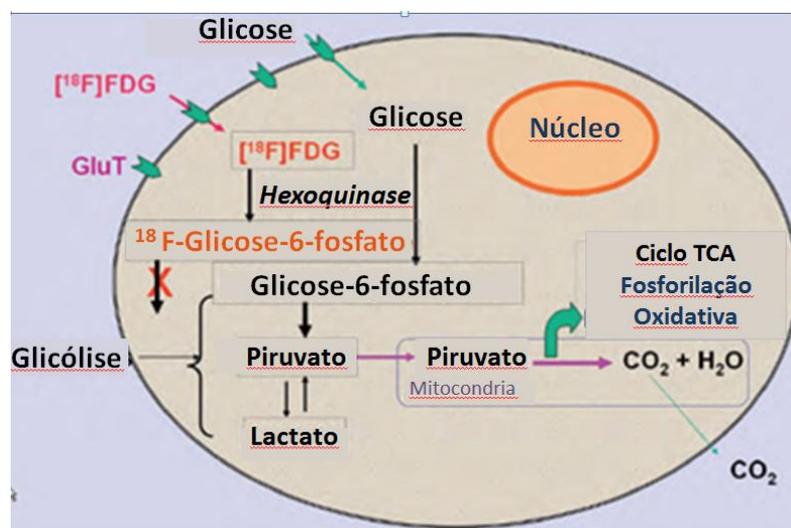


FIGURA 3: Metabolismo intracelular do ^{18}F -FDG^[4]

O córtex cerebral usa principalmente a glicose como fonte de energia, conseqüentemente o acúmulo de ^{18}F -FDG é alto [1,3,16].

O miocárdio usa vários substratos dependendo da disponibilidade e do estado do metabolismo. No estado de jejum o miocárdio utiliza ácidos graxos livres, mas em fase pós-prandial ou após sobrecarga de glicose, a utilização de glicose e a captação de ^{18}F -FDG aumenta. Assim para estudos cardíacos é administrada uma dose extra de glicose, mas para obter imagem tumoral o jejum é necessário. Níveis elevados de glicose competem com o ^{18}F -FDG e resultam na baixa captação tumoral [3].

Ao contrário da glicose, o ^{18}F -FDG tem excreção renal e um pouco pelo trato gastrointestinal [3].

1.6 Toxicidade do Fluorodeoxiglicose – ^{18}F Flúor (^{18}F -FDG)

A toxicidade do ^{18}F -FDG começou a ser testada em 1973, na verdade não era a molécula radioativa, mas sim somente a 2-fluor-2-deoxi-D-glicose (FDG) onde foi relatado que a LD_{50} para ratos era de aproximadamente 600 mg kg^{-1} [24]. Em 1980, outros estudos de toxicidade foram realizados em camundongos e cachorros, novamente com a mesma molécula de FDG, onde doses de $14,3 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,72 \text{ mg kg}^{-1}$ foram injetadas pela via intraperitoneal em camundongos e cachorros, uma vez por semana durante o período de 3 semanas. Os animais foram então sacrificados e seus órgãos examinados por necropsia e histologia. Além disso, os cachorros passaram por exames de sangue e urina semanalmente. Como conclusão os animais não apresentaram nenhuma evidência de toxicidade, quando comparados com os grupos controle. Estes resultados serviram de segurança para a administração em humanos, indicando como dose segura de 1 mg de ^{18}F -FDG ($0,014 \text{ mg kg}^{-1}$), um fator de 150 vezes a menos que a dose total administrada em cachorros sem efeitos de toxicidade e um fator de 3000 vezes a menos que a dose total administrada em camundongos sem efeito de toxicidade [24].

A dosimetria do ^{18}F -FDG foi estimada com base na biodistribuição em cachorros, que foram sacrificados nos tempos de 60 e 135 minutos após a administração. O órgão que recebeu maior atividade foi bexiga, com dose estimada de $780 \text{ } \mu\text{Sv/MBq}$. Estas estimativas foram refinadas quando

estudos da biodistribuição e excreção humana se tornaram possíveis a partir de 1982. Para humanos a bexiga recebe a maior dose de radiação [16], devido a eliminação do ^{18}F -FDG acontecer pelos rins, conforme está descrito na TAB. 1.

TABELA 1: Dose absorvida por atividade administrada de ^{18}F -FDG (mGy/MBq) para humanos [23]

ORGÃO	ADULTO (70 Kg)	15 ANOS	10 ANOS	5 ANOS	1 ANO
Bexiga	0,16	0,21	0,28	0,32	0,59
Coração	0,062	0,081	0,12	0,200	0,350
Cérebro	0,028	0,028	0,030	0,034	0,048
Rins	0,021	0,025	0,036	0,054	0,096
Útero	0,021	0,026	0,039	0,055	0,100
Ovários	0,015	0,020	0,030	0,044	0,082
Cólon Descendente	0,015	0,019	0,029	0,042	0,076
Cólon	0,013	0,017	0,027	0,040	0,074
Intestino Delgado	0,013	0,017	0,027	0,041	0,077
Cólon Ascendente	0,012	0,016	0,025	0,039	0,072
Pâncreas	0,012	0,016	0,025	0,040	0,076
Testículos	0,012	0,016	0,026	0,038	0,073
Supra-renais	0,012	0,015	0,024	0,038	0,072
Vesícula Biliar	0,012	0,015	0,023	0,035	0,066
Estômago	0,011	0,014	0,022	0,036	0,068
Ossos	0,011	0,014	0,022	0,035	0,066
Fígado	0,011	0,014	0,022	0,037	0,070
Músculos	0,011	0,014	0,021	0,034	0,065
Esôfago	0,011	0,015	0,022	0,035	0,068
Medula Vermelha	0,011	0,014	0,022	0,032	0,061
Baço	0,011	0,014	0,022	0,036	0,069
Timo	0,011	0,015	0,022	0,035	0,068
Tireóide	0,010	0,013	0,021	0,035	0,068
Pulmões	0,010	0,014	0,021	0,034	0,065
Mamas	0,0086	0,011	0,018	0,029	0,056
Pele	0,008	0,010	0,016	0,027	0,052
Outros Órgãos	0,011	0,014	0,022	0,034	0,063
Dose Efetiva ($\mu\text{Sv}/\text{MBq}$)	0,019	0,025	0,036	0,050	0,095

Dados baseados na publicação da Comissão Internacional de Proteção Radiológica ICRP - 80 (1990)

Fonte: dados extraídos da Bula do radiofármaco ^{18}F -FDG, IPEN, 2010, p. 02.

Através da combinação destes estudos baseados no conhecimento da relação estrutura-atividade, estudos toxicológicos do FDG, biodistribuição do ^{18}F -FDG em camundongos e cachorros e cálculos dosimétricos foi possível fornecer uma base para os primeiros estudos em humanos [16].

Somente nos anos 90 depois de muitas pesquisas clínicas com o ^{18}F -FDG nas áreas neurológicas, oncológicas e cardiovasculares foi possível obter o primeiro registro pelo FDA para comercialização ^[19].

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é avaliar a toxicidade sistêmica (aguda/subaguda) do radiofármaco para diagnóstico ^{18}F -FDG em um sistema teste *in vivo*, conforme preconiza a RDC nº 64 da ANVISA.

Como também estes estudos irão favorecer a elaboração de protocolos de toxicidade para o registro de novos radiofármacos, que venham a ser utilizados na medicina nuclear.

2.1 JUSTIFICATIVA

O conhecimento adquirido neste trabalho será um importante passo para o aprendizado dos testes de toxicidade dos radiofármacos produzidos no IPEN, visando o desenvolvimento dos protocolos de toxicidade. A escolha do radiofármaco, ^{18}F -FDG, reflete sua importância para a Medicina Nuclear Brasileira.

Atualmente o ^{18}F -FDG é utilizado na maioria de diagnósticos obtidos através da técnica de PET, pois permite maior sensibilidade nas imagens obtidas, diagnósticos mais precisos e amplo espectro de detecção de patologias oncológicas, cardiológicas e neurológicas.

O IPEN produz o ^{18}F -FDG no Brasil desde 1999, antes da publicação das resoluções 63 e 64. Devido a isso o ^{18}F -FDG foi considerado como radiofármaco consagrado, necessitando de registro, mas não requerendo a realização de ensaios pré-clínicos e clínicos para o registro, somente referências bibliográficas para a comprovação da sua segurança e eficácia, pois o mesmo já vindo sendo utilizado no mercado.

O propósito de se realizar estudos pré-clínicos com o ^{18}F -FDG é que por ter sua toxicologia bem conhecida irá favorecer o desenvolvimento e a

realização de protocolos de toxicidade para registros de novos radiofármacos que venham a ser utilizados na medicina nuclear.

A legislação adotada neste trabalho foram os guias da ANVISA, FDA e EMEA para condução de testes.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Infraestrutura e Equipamentos

Todos os procedimentos foram realizados nos laboratórios do Centro de Radiofarmácia (CR) e no Centro de Biotecnologia (CB) dentro do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP). Fora do IPEN foram realizados serviços terceirizados no laboratório Lab&Vet. Foram utilizados:

- Detector de Germânio hiper puro, modelo GX1518: *Canberra*; acoplado ao programa Geniepc para tratamento dos dados.
- Balança analítica, modelo M-220: *Denver Instrument*;
- Calibrador de doses, modelo CRC-15R: *Capintec*;
- Capela química com exaustão;
- Microscópio *Nikon 80i* com filtro Ex510-560/Em590LP, aumento de 20X
- Micro PET *Albira Carestream* Molecular Imaging

3.2 Materiais e Reagentes

- Amostras de ^{18}F -FDG foram obtidas da produção rotineira do CR. A produção acontece de segunda a sexta, de duas a três vezes por dia;
- 48 Animais do Biotério (ratos wistar) do IPEN-CNEN/SP. Projeto nº73/11 CEUA-IPEN/SP
- Solução de Cloreto de Sódio (NaCl) a 0,9%: HYPOFARMA.
- Cloridrato de Quetamina (DOPALEN) 10 mL: CEVA.
- Uretana: MERCK
- Cloridrato de Xilazina (ANASEDAN) 10 mL: CEVA.
- Tiopental 1G (THIOPENTAX): CRISTÁLIA
- Isoflorano (ISOFORINE) 100 mL: CRISTÁLIA

- N-lauril Sarcosinato de sódio: SIGMA-ALDRICH
- Triton X- 100: SIGMA-ALDRICH
- Tris (hidroximetil-aminometano): MERCK
- Agarose low-melt: SIGMA-ALDRICH
- Agarose convencional: SIGMA-ALDRICH
- Ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA): MERCK
- Hidróxido de Sódio (NaOH): MERCK
- Cloreto de Sódio (NaCl): MERCK
- Microtubos de 1,5 mL
- Brometo de Etídio (EtBr): SIGMA-ALDRICH
- Pipetas automáticas de 50 – 100 µL e 1 mL com ponteiros estéreis: GILSON

3.3 Estudos Realizados

Os estudos toxicológicos desenvolvidos neste trabalho, de acordo com a RDC 64 foram:

- Avaliação da dose injetada
- Toxicidade Aguda
- Toxicidade Subaguda
- Biodistribuição e imagens no microPET
- Ensaio Cometa
- Toxicidade Reprodutiva

3.3.1 Avaliação da dose injetada de ¹⁸F- FDG

Este estudo teve por finalidade definir a dose de atividade a ser administrada no teste de toxicidade aguda que foi de uma única dose e no teste de toxicidade subaguda foram múltiplas doses. Esses ensaios foram direcionados para a molécula (FDG) após o decaimento completo de ¹⁸F e de qualquer outro metabólito gerado na sua administração, sendo classificada como um fármaco convencional.^[5] Desta maneira foram avaliados também quaisquer efeitos tóxicos advindos do efeito da radiólise

causada pelo ^{18}F , que pode causar modificações estruturais na sua própria molécula ou nos seus metabólitos.^[5]

A dose administrada pela via intravenosa nos animais foi calculada com base na dose de atividade máxima que um paciente de 70 kg pode vir a receber em um exame, cerca de 555MBq (15 mCi), dose padrão dos serviços de Medicina Nuclear no Brasil. Esta dose foi calculada e convertida para ratos de 300 g e assim estabelecida uma dose padrão para atividade do radiofármaco frio, o volume injetado e a massa do radiofármaco.

3.3.2 Estudos de Toxicidade Aguda

A toxicidade aguda é definida como a medida e avaliação dos efeitos adversos que ocorrem dentro de um período curto, 14 dias, após a administração de uma dose única ou de múltiplas doses dentro de 24 horas. Este teste seguiu o guia do FDA-*Single dose acute toxicity testing for pharmaceuticals* e está descrito na TAB. 2.^[13,25] O objetivo deste estudo foi caracterizar a relação dose/resposta que conduz ao *NOAEL* (*No Observed Adverse Effect Level*) – dose máxima sem efeitos adversos.^[26]

No 1º dia de experimento, injetou-se uma única dose intravenosamente de ^{18}F - FDG sem atividade e os animais foram observados durante os 14 dias seguintes após a injeção, sendo que no 15º dia sofreram eutanásia, para realização da necropsia.^[25]

TABELA 2: Protocolo da Toxicidade Aguda

Toxicidade Aguda	
Animais	<ul style="list-style-type: none"> • 18 roedores saudáveis: 9 fêmeas e 9 machos ^[5,25]; • Espécie <i>Rattus norvegicus</i>; linhagem: Wistar ^[25]; • Peso em torno de 250 g a 300 g; • Idade de 7-8 semanas de vida ^[27]; • Retirados do biotério com 5 dias de antecedência ao teste, para ambientação ^[28]; • Mantidos sob condições de umidade (60%) e temperatura (22°C ± 2) controladas, segundo normas internacionais ^[28]; • Dieta específica e água filtrada foram oferecidas <i>ad libitum</i> ^[13,25]; • O ciclo de luz de claro/escuro foi de 12hs ^[28].
Grupos	<ul style="list-style-type: none"> • Grupo Controle, n = 6 (3 fêmeas e 3 machos): Injetados com salina, com os mesmos volumes do grupo de 100X e de 1000X; • Grupo com Radiofármaco Frio dose 100X, n = 6 (3 fêmeas e 3 machos): injetados com o ¹⁸F-FDG após o decaimento, para estudo do veículo. • Grupo com Radiofármaco Frio dose 1000X, n = 6 (3 fêmeas e 3 machos): injetados com o ¹⁸F-FDG após o decaimento, para estudo do veículo.
Dose	<ul style="list-style-type: none"> • Foram injetadas duas doses intravenosamente, uma de 100 vezes e outra de 1000 vezes a mais a massa do radiofármaco frio, padronizada para diagnóstico em humanos. O valor de dose relativa a 10.000 vezes não será testado, pois a bibliografia confirma convulsão dos ratos ^[27].
Parâmetros Avaliados	<ul style="list-style-type: none"> • Peso corpóreo ^[13,25]. • Consumo de água ^[13,25]. • Sinais clínicos; (TAB.3) ^[13,25]. • Sinais de toxicidade (início, grau e duração) ^[13,25]; • Necropsia e exame histopatológico dos órgãos alvo (coração, cérebro, fígado, rins e bexiga) ^[13,25]; • As observações foram constantes para evitar perdas por canibalismo e autólise. Animais com sintomas severos de dor e sofrimento devem ser sacrificados imediatamente ^[28].
Eutanásia	<ul style="list-style-type: none"> • A eutanásia foi realizada com a associação de quetamina (250 µL) + xilazina (250 µL) para as fêmeas e quetamina (350 µL) + xilazina (250 µL) em doses anestésicas e por último finalizados com a câmara de CO₂ ^[29,30].

TABELA. 3: Parâmetros clínicos usados como referência para qualificação da toxicidade sistêmica.^[31]

Observação Clínica	Sintomas	Sistemas (órgãos) envolvidos
1. Respiratória	Dispnéia (respiração abdominal, ofegar), apnéia, cianose, taquipnéia, descarga nasal	SNC*, pulmão e coração
2. Atividade motora	Aumento/diminuição sonolência, perda da postura, anestesia, catalepsia, ataxia, locomoção anormal, prostração, tremores, fasciculação	SNC, somatomotor, sensorial, neuromuscular, autonômico
3. Convulsão	Clônica, tônica, tônico-clônica, opstótono, asfíxia	SNC, neuromuscular, autonômico, respiratório
4. Reflexos	Corneal, postural, miotático, luz, reflexo de startle (susto)	SNC, sensorial, autonômico, neuromuscular
5. Sinais oculares	Lacrimajamento, miose, midríase, exoftalmia, ptose, opacidade, irite, conjuntivite, cromodraciorrêia, relaxamento da membrana nictante	Autonômico, irritação
6. Sinais cardiovasculares	Bradycardia, taquicardia, arritmia, vasodilatação, vasoconstrição	SNC, autonômico, cardíaco, pulmonar
7. Salivação	Excessiva	Autonômico
8. Piloereção	Pêlo arrepiado	Autonômico
9. Analgesia	Reação diminuída	SNC, sensorial
10. Tônus muscular	Hipotonia, hipertonia	Autonômico
11. Gastrointestinal	Fezes moles, emêse, diurese, rinorrêia	SNC, autonômico, sensorial, motilidade GI, renal
12. Pele	Edema, eritema	Lesão tecidual, irritação
13. Stress	Gritos, agitação, sangramento nasal, agressividade	SNC

* SNC = Sistema Nervoso Central.

3.3.2.1 Análise dos parâmetros dos testes de toxicidade aguda

- *Peso* – A perda e ganho de peso foi avaliada durante o período de 15 dias de experimento. As pesagens foram realizadas no 1º dia de experimento, após a administração e depois nos dias 3º, 8º, 10º, 15º de experimento.
- *Consumo de água e ração* – O consumo de água e ração foi avaliado e mensurado nos mesmos dias da pesagem, no 1º, 3º, 8º, 10º, 15º de experimento. O consumo de água era observado por caixa com 3 animais (TAB.4), cada caixa apresentava um bebedouro de 900 mL de água, e após a medição o bebedouro era completado com água novamente, para a próxima medição.

TABELA 4: Número de caixas de ratos e seus grupos correspondentes.

Caixa 1	Grupo controle fêmea (n=3)
Caixa 2	Grupo controle macho (n=3)
Caixa 3	Grupo 100X fêmea (n=3)
Caixa 4	Grupo 100X macho (n=3)
Caixa 5	Grupo de 1000X fêmea (n=3)
Caixa 6	Grupo de 1000X macho (n=3)

- *Sinais de Toxicidade* – As observações dos sinais de toxicidade foram realizadas todos os dias, uma pela manhã e outra a tarde. Os principais sinais clínicos observados, de acordo com a droga administrada, foram: respiratório, gastrointestinal, atividade motora, convulsão, sinais oculares, salivação, piloereção e pele.
 - *Necropsia*: Realizada pela veterinária do laboratório terceirizado (Lab&Vet), afim de confirmar e esclarecer patologias que venham ser causadas pela exposição do radiofármaco.

Após os animais serem eutanasiados, foram levados para o laboratório terceirizado, onde logo que chegaram passaram por um completo exame *post-mortem*, que incluía inspeção de superfícies

externas, órgãos e orifícios. Cavidades cranianas, torácicas, abdominais, pélvicas também foram inspecionadas. Por fim todos os órgãos alvos foram examinados *in situ*^[27].

- *Histopatologia* – O exame foi também realizado por laboratório terceirizado, (Lab&Vet).

Foram feitas lâminas dos órgãos alvos pela técnica de hematoxilina e eosina para a avaliação histopatológica^[27], onde foram analisadas por uma veterinária patologista do próprio laboratório.

3.3.2.2 Análise dos resultados dos testes de toxicidade aguda

Todos os parâmetros avaliados foram tabulados para a realização de comparações entre os diferentes grupos de animais, como também comparações com referências bibliográficas.

Os dados dos parâmetros como peso e consumo de água dos grupos foram avaliados por suas médias e erro padrão. Como também comparados pela ANOVA pelo teste de Dunnett's, no programa INSTAT^[27]. Onde os grupos experimentais são comparados contra o controle.

3.3.3 Estudos de Toxicidade Subaguda

Este teste é realizado com base no guia EMEA – *Guideline repeated dose toxicity*, para obtenção de informações sobre a toxicidade de substâncias, após exposições repetidas.^[32] Também caracteriza a relação dose/resposta e fornece dados para a escolha de doses nos estudos de exposição crônica.^[12] As observações dos ensaios subagudos foram realizadas por um período de 28 dias,^[32] no qual foram administradas intravenosamente uma primeira dose no início do teste e após a primeira quinzena foi administrada uma segunda dose, expondo os ratos a duas doses, ou seja, o que corresponde para humanos o limite de dois diagnósticos por ano, conforme demonstra a TAB. 5.

Neste estudo foi adicionado mais um grupo de animais, o grupo glicose, injetados somente com o veículo do ¹⁸F-FDG, ou seja, a glicose. A massa de glicose injetada nos animais foram às mesmas massas de

glicose injetadas nos grupos de 100X e 1000X a dose padrão, como também o mesmo volume.

TABELA 5: Protocolo da Toxicidade Subaguda

Toxicidade Subaguda	
Animais	<ul style="list-style-type: none"> • 24 roedores saudáveis: 12 fêmeas e 12 machos^[5,32] • Espécie <i>Rattus norvegicus</i>; linhagem: Wistar^[32] • Peso em torno de 250g a 300g; • Idade de 7-8 semanas de vida;^[27] • Retirados do biotério com 5 dias de antecedência ao teste, para ambientação;^[28] • Mantidos sob condições de umidade (60%) e temperatura (22°C ± 2) controladas, segundo normas internacionais;^[28] • Dieta específica e água filtrada foram oferecidas <i>ad libitum</i>;^[13,32] • O ciclo de luz de claro/escuro será de 12h.^[28]
Grupos	<ul style="list-style-type: none"> • Grupo Controle, n = 6 (3 fêmeas e 3 machos): Injetados com salina, com os mesmos volumes do grupo de 100X e de 1000X; • Grupo Glicose, n = 6 (3 fêmeas e 3 machos): Injetados com a mesma quantidade de glicose do veículo do ¹⁸F-FDG; • Grupo com Radiofármaco Frio dose 100, n = 6 (3 fêmeas e 3 machos): injetados com o ¹⁸F-FDG sem atividade, para estudo do veículo. • Grupo com Radiofármaco Frio dose 1000, n = 6 (3 fêmeas e 3 machos): injetados com o ¹⁸F-FDG sem atividade, para estudo do veículo.
Dose	<ul style="list-style-type: none"> • Foram injetadas duas doses intravenosamente, uma de 100 vezes e outra de 1000 vezes a mais a massa do radiofármaco frio, padronizada para diagnóstico em humanos no primeiro dia do teste. Após quinze dias os animais foram injetados com uma segunda dose. O valor de dose relativa a 10.000 vezes não será testado, pois a bibliografia confirma convulsão dos ratos.^[27]
Parâmetros Avaliados	<ul style="list-style-type: none"> • Peso corpóreo;^[13,32] • Consumo de água;^[13,32] • Sinais clínicos (TAB.3);^[12,26] • Hemograma;^[13,32] • Função hepática e renal;^[13,32] • Sinais de toxicidade (início, grau e duração);^[13,32] • Necropsia e exame histopatológico dos órgãos alvo (coração, cérebro, fígado, rins e bexiga);^[13,32] • As observações foram constantes para evitar perdas por canibalismo e autólise. Animais com sintomas severos de dor e sofrimento devem ser sacrificados imediatamente.^[28]
Eutanásia	<ul style="list-style-type: none"> • Primeiramente os animais foram anestesiados com Tiopental a 2,5% (12,5mg/kg) para a realização da punção cardíaca, onde foi retirada uma pequena quantidade de sangue (0,5mL) para o hemograma. Após isso foi injetado uma solução com cloreto de potássio a 19,1% para sacrificá-los^[29].

3.3.3.1 Análise dos parâmetros dos testes de toxicidade subaguda

- *Peso* – A perda e ganho de peso foi avaliada durante o período de 28 dias de experimento. As pesagens foram realizadas no 1º dia de experimento, após a administração e depois nos dias 3º, 8º, 10º, 15º, 17º, 22º, 24º e 28º de experimento.
- *Consumo de água e ração* – O consumo de água e ração foi avaliado e mensurado nos mesmos dias da pesagem, no 1º, 3º, 8º, 10º, 15º, 17º, 22º, 24º e 28º de experimento. O consumo de água era observado por caixa com 3 animais (TAB.6), cada caixa apresentava um bebedouro de 900 mL de água, e após a medição o bebedouro era completado com água novamente, para a próxima medição. O consumo de ração era também observado por caixa, cada caixa recebia 500g de ração e nos dias de avaliação, a ração era pesada para ver o consumo e depois era completada novamente com 500g.

TABELA 6: Número de caixas de ratos e seus grupos correspondentes.

Caixa 1	Grupo controle fêmea (n=3)
Caixa 2	Grupo controle macho (n=3)
Caixa 3	Grupo Glicose fêmea (n=3)
Caixa 4	Grupo Glicose macho (n=3)
Caixa 5	Grupo de 100X fêmea (n=3)
Caixa 6	Grupo de 100X macho (n=3)
Caixa 7	Grupo de 1000X fêmea (n=3)
Caixa 8	Grupo de 1000X macho (n=3)

- *Hemograma* – A coleta do sangue foi realizada após a anestesia de Tiopental até a perda dos reflexos protetores. A amostra de 500µL de sangue foi retirada por via intracardíaca e foi colocada em um microtubo com anticoagulante (EDTA) para seu armazenamento em geladeira de 2°C a 8°C até a coleta do laboratório. Este exame foi realizado por um laboratório terceirizado (Lab&Vet).

No exame foi avaliado o potencial de coagulação (PT, APTT), concentração de hemoglobina, hematócrito, contagem de plaquetas, contagem de células vermelhas, contagem de células brancas e WBC diferencial.

- *Sinais de Toxicidade* – As observações dos sinais de toxicidade foram realizadas todos os dias, uma pela manhã e outra a tarde. Os principais sinais clínicos observados, de acordo com a droga administrada, foram: respiratório, gastrointestinal, atividade motora, convulsão, sinais oculares, salivação, piloereção e pele.

- *Função hepática e renal* – O exame foi realizado por laboratório terceirizado. A amostra de sangue que foi utilizada neste exame foi a mesma amostra tirada para o hemograma. O armazenamento até a coleta do laboratório também foi em geladeira em temperatura entre 2°C a 8°C.

No exame de função hepática foi avaliada a enzima ALT – alanina amino transferase. No exame de função renal foi doseada a creatinina.

- *Necropsia*: Realizada pela veterinária do laboratório terceirizado em todos os animais, afim de confirmar e esclarecer patologias causadas pela a exposição do radiofármaco.

Após os animais serem eutanasiados, foram levados para o laboratório terceirizado, onde logo que chegaram passaram por um completo exame *post-mortem*, que incluía inspeção de superfícies externas, órgãos e orifícios. Cavidades cranianas, torácicas, abdominais e pélvicas também foram inspecionadas. Por fim todos os órgãos alvos foram examinados *in situ*^[27].

- *Histopatologia* – O exame também foi realizado por laboratório terceirizado.

Foram feitas lâminas dos órgãos alvos pela técnica de hematoxilina e eosina para a avaliação histopatológica^[27], que foram analisadas por uma veterinária do próprio laboratório.

3.3.3.2 Análise dos resultados dos testes de toxicidade subaguda

Todos os parâmetros avaliados foram tabulados para a realização de comparações entre os diferentes grupos de animais, como também comparações com referências bibliográficas.

Os dados dos parâmetros como peso, consumo de água e ração, hemograma, função hepática e renal dos grupos foram avaliados por suas médias e erro padrão. Como também comparados pela ANOVA pelo teste de Dunnett's, no programa INSTAT ^[27]. Onde os grupos experimentais são comparados contra o controle.

3.3.4. Ensaio de biodistribuição do ¹⁸F- FDG e imagens no microPET

O primeiro ensaio de dosimetria visou obter a biodistribuição da radiofarmáco no organismo dos animais, sendo classificado como estudo invasivo.

Neste estudo uma dose de 18,5 MBq (500µCi) de ¹⁸F-FDG foi administrada na cauda de cada rato wistar (n=3) (TAB.7), intravenosamente. Esperou-se 30 minutos de captação no organismo e após este tempo os animais foram sacrificados e seus órgãos alvos, como cérebro, fígado, rins, coração e bexiga, foram retirados, pesados e a atividade de ¹⁸F foi medida em cada órgão com calibrador de doses. A dose em cada órgão foi expressa como %atividade/órgão ^[27]. O sangue dos animais foi também retirado e sua atividade medida.

TABELA 7: Características dos animais utilizados na biodistribuição e no ensaio cometa.

Biodistribuição e Cometa	
Animais	<ul style="list-style-type: none"> • 3 roedores saudáveis ^[27]; • Espécie <i>Rattus norvegicus</i>; linhagem: Wistar ^[27] • Peso em torno de 250g a 300g; • Idade de 7-8 semanas de vida ^[27]; • Retirados do biotério com 5 dias de antecedência ao teste, para ambientação ^[28]; • Mantidos sob condições de umidade (60%) e temperatura (22°C ± 2) controladas, segundo normas internacionais ^[28]; • Dieta específica e água filtrada serão oferecidas <i>ad libitum</i> ^[13]; • O ciclo de luz de claro/escuro será de 12h ^[28].

Também foram realizadas imagens da biodistribuição do ^{18}F - FDG no equipamento microPET no próprio CR para comparação com a biodistribuição invasiva e também com dados da literatura. Este estudo foi classificado como não invasivo.

As imagens da captação do ^{18}F - FDG foram realizadas no equipamento de microPET em somente um rato. Foi injetada a atividade de 7,9 MBq (214 μCi) no animal, intravenosamente pela cauda. Acima desta dose o equipamento não consegue obter imagens devido à saturação. Esperou-se também 30 minutos de captação, onde após este tempo o animal foi anestesiado com Isoflurano, para a obtenção da imagem. Neste estudo a dose foi expressa em %atividade/ cm^3 , pois o equipamento não apresenta o CT (Tomografia computadorizada), que permite delimitação melhor dos órgãos, o que dificulta a visualização e a contabilização da captação precisa de cada órgão. O foco deste estudo foi a ilustração da captação geral do radiofármaco, sendo o primeiro trabalho de imagem em ratos realizado no CR com este equipamento.

3.3.5 Ensaio de fragmentação de DNA por análise de “cometas”

O ensaio cometa (eletroforese em microgel) é uma técnica sensível, rápida e barata para análise direta de dano no DNA em nível de célula individual [33,34]. Este ensaio complementa a biodistribuição em animais, pois permite a detecção de dano radioinduzido nos animais expostos ao radiofármaco ^{18}F - FDG comparando os animais não expostos.

O DNA celular é o alvo mais relevante dos efeitos das radiações ionizantes em células. Tais efeitos podem ocorrer sob a forma de quebras nas fitas, podendo estas quebras ocorrerem tanto em uma única fita quanto na cadeia de fitas duplas, dependendo da energia da radiação e de fatores acessórios, como a presença de oxigênio e água [35]. Os danos provocados são detectados e corrigidos por sistemas de reparo de DNA, presentes em todas as células vivas e que, em eucariontes, é constituído de mecanismos complexos envolvendo várias classes de biomoléculas. Este sistema age no reparo de DNA independentemente de exposições à radiação,

corrigindo pequenas mutações gênicas ou cromossômicas que ocorrem espontaneamente nas células. No entanto, os mecanismos de reparo são probabilisticamente sujeitos a falhas, e quando estas ocorrem, podem desencadear processos que levam as células atingidas à morte, ou a mutações, as quais acarretam em malformações, envelhecimento precoce, e em alguns casos à formação de tumores [33].

As vantagens desta técnica são a pequena quantidade de células contidas na amostra de sangue, que é na ordem de μL , a facilidade de obtenção de dados e a alta sensibilidade para detectar dano em DNA (5 cGy de radiação de baixo LET) [36].

Amostras: Amostras de sangue de 3 ratos wistar (TAB.5), que foram submetidos a uma primeira coleta controle de sangue (200 μL) pela cauda e em seguida foram administrados com 18,5 MBq (500 μCi) de ^{18}F -FDG. Após 30 minutos de injeção os animais foram anestesiados com uretana e assim amostras de sangue experimentais (500 μL) foram coletadas por punção cardíaca. Todas as amostras de sangue foram coletadas com EDTA para impedir a coagulação e também foram resfriadas a 0°C para impedir o reparo de dano ao DNA.

Lise e Eletroforese: Para a análise de fragmentação de DNA foi utilizada a técnica de lise alcalina de núcleos para evidenciar quebra em fita simples (ssb), como também quebra em fita dupla (dsb) no DNA [35], seguida de eletroforese em lâminas histológicas usando protocolo modificado a partir do trabalho de Singh e colaboradores [37]. Em linhas gerais, a técnica consiste na imobilização de 7 μL de sangue total em 100 μL de solução 0,5% de agarose de baixo ponto de fusão em PBS (NaCl 137 mmol.L^{-1} , KCl 2,7 mmol.L^{-1} , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 mmol.L^{-1} , KH_2PO_4 2 mmol.L^{-1} , EDTA 0,68 mmol.L^{-1}). Após homogeneização, a suspensão celular em agarose foi espalhada na superfície de lâminas histológicas previamente cobertas por uma camada de solução 1,5% de agarose comum em PBS. Após solidificação, as lâminas foram imersas em solução de lise em pH alcalino (NaCl 2,5 mmol.L^{-1} , EDTA 100 mmol.L^{-1} , Tris 10 mmol.L^{-1} , Sarcosinato de Sódio 1%, Triton X-100 1%, DMSO 10%) para

desenovelamento do DNA por 120 minutos a 4°C e ao abrigo da luz. Ao término da incubação, as lâminas repousaram por 30 minutos na solução tampão para eletroforese (NaOH 300 mmol.L⁻¹, EDTA 200 mmol.L⁻¹, pH 14) e subsequentemente sofreram eletroforese (25V, 300mA) por 30 minutos. Para finalização do efeito desnaturante as lâminas sofreram três lavagens de 5 minutos cada uma com solução neutralizadora (Tris 0,4 mmol.L⁻¹, pH 7,5) e fixadas em etanol 95% por 10 minutos. As amostras foram testadas em triplicata.

Análise e captura da imagem do cometa: A visualização do dano ao DNA foi realizada por microscopia de fluorescência. As lâminas foram coradas com solução de brometo de etídio (2ug/mL) e observadas com filtros de excitação e emissão apropriados (λ_{ex} : filtro Ex510-560/Em590LP, aumento de 20X). O dano nos nucleóides foi quantificado por análise subjetiva horizontal, onde foram atribuídos valores de 0 a 4 para nucleóides com a menor ou a maior fragmentação encontrada. Foram contabilizados ao menos 200 eventos por lâmina. As frequências de dano (DD), distribuídas entre células das classes 0, 1, 2, 3 ou 4 foram utilizadas no cálculo de dano radioinduzido segundo a Equação 1, onde classe 0 representa célula sem nenhum dano, seguindo 1-4 representando danos crescentes através da intensidade e comprimento da cauda (FIG.4).

$$DD = (n^{\circ} \text{ de eventos Classe 1}) + [2^*(n^{\circ} \text{ de eventos Classe 2})] + [3^*(n^{\circ} \text{ de eventos Classe 3})] + [4^*(n^{\circ} \text{ de eventos Classe 4})] / (\text{Número total de eventos} / 100)$$

Equação 1

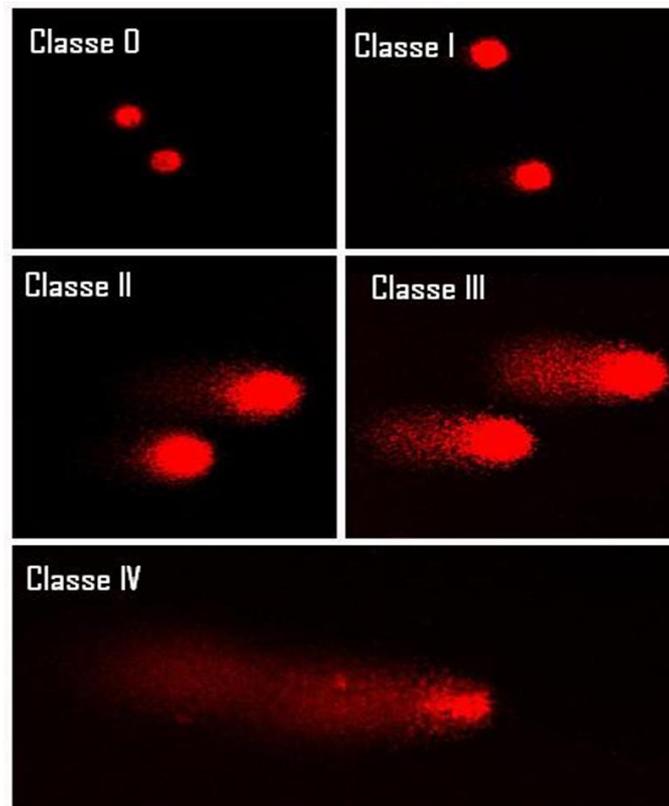


FIGURA 4: Representação de níveis de danos radioinduzidos crescentes através da intensidade e comprimento da cauda do teste cometa.

Os resultados foram comparados pelo teste-t (*Student*), considerando diferenças significativas aquelas cujo valor de p mostrou-se menor que 0,05^[37].

3.3.6 Estudos de Toxicidade Reprodutiva

O objetivo deste estudo foi analisar o desenvolvimento pré e pós-natal, incluindo função materna, dos animais expostos ao ^{18}F -FDG, verificando se o radiofármaco ^{18}F -FDG pode interferir na reprodução ou causar alguma patologia nos animais expostos e em seus descendentes^[13]. Este estudo também complementou os protocolos de estudos de toxicidade para novos radiofármacos. Este teste foi realizado em 3 casais de ratos wistar (TAB. 8), que receberam doses maiores provenientes de um diagnóstico de PET com ^{18}F -FDG 18,5 MBq (500 μCi) e foram colocados em cruzamento para a

avaliação do nascimento dos seus descendentes até a 2ª geração. A duração deste experimento foi de 2 a 3 meses, pois a gestação do primeiro casal é de um período de 21 dias, assim resultando no nascimento da 1ª geração. Para cruzar a 1ª geração deve-se esperar os animais entrar na fase adulta, ou seja, mais 2 meses e assim cruzando-os para a obtenção da 2ª geração.

TABELA 8: Características dos animais utilizados no estudo de toxicidade reprodutiva.

Toxicidade Reprodutiva	
Animais	<ul style="list-style-type: none"> • 6 roedores saudáveis – 3 Fêmeas e 3 Machos^[13]; • Espécie <i>Rattus norvegicus</i>; linhagem: Wistar^[13] • Peso em torno de 250g a 300g; • Idade de 7-8 semanas de vida^[27]; • Retirados do biotério com 5 dias de antecedência ao teste, para ambientação^[28]; • Mantidos sob condições de umidade (60%) e temperatura (22°C ± 2) controladas, segundo normas internacionais^[28]; • Dieta específica e água filtrada serão oferecidas <i>ad libitum</i>^[13]; • O ciclo de luz de claro/escuro será de 12h^[28].

Os casais foram colocados em caixas (TAB.9) e mantidos juntos durante 20 dias juntos. Após esse período de cruzamento os casais foram separados, para a espera do nascimento da 1ª geração. Foi realizada uma monitoração duas vezes por semana antes e durante a gestação e após o nascimento dos filhotes a monitoração era realizada diariamente. Após 1 mês do nascimento a monitoração era realizada uma vez por semana.

TABELA 9: Casais de ratos mantidos por caixa na toxicidade reprodutiva.

Casal 1	<i>Macho 1 + Fêmea 4</i>
Casal 2	<i>Macho 2 + Fêmea 5</i>
Casal 3	<i>Macho 3 + Fêmea 6</i>

As caixas dos animais eram trocadas semanalmente, evitando o stress da fêmea na hora de manipulação dos filhotes.

Os parâmetros avaliados foram a mortalidade pré e pós-natal dos filhotes, crescimento e desenvolvimento alterados, alterações funcionais dos filhotes, incluindo comportamento, maturidade (puberdade) e reprodução ^[13].

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Avaliação da dose injetada de ^{18}F -FDG

No diagnóstico de imagem com ^{18}F -FDG, a dose padrão injetada em um paciente de até 70 kg é de 555 MBq (15 mCi), diluída em um volume de 1 mL a 2 mL de solução salina. Foi utilizada essa dose padrão, para calcular a dose para ratos de 300g, que corresponde a 2,36 MBq (64 μ Ci).

Existe um limite de exposição para este tipo de diagnóstico, onde o paciente saudável não deve se submeter a mais de dois diagnósticos por ano. Deste modo foi assumido o mesmo comportamento para os ratos, só que em vez de duas vezes o diagnóstico ao ano, a dose de 2,36 MBq (64 μ Ci) foi multiplicada por três vezes ao ano, resultando em 7,10 MBq (192 μ Ci), excedendo a mais um exame, com a intenção de ultrapassar o limite de segurança humano.

Antes da injeção, foi esperado o decaimento total do ^{18}F para a administração do radiofármaco nos animais.

Nos animais do grupo de 100X foram injetadas as doses de 100 vezes a mais a dose ao ano 7,10MBq (192 μ Ci), correspondendo a 710 MBq (19,2 mCi) em um volume de 100 μ L. Nos animais do grupo de 1000X foram injetadas as doses de 1000 vezes a mais a dose ao ano 7,10MBq (192 μ Ci), representando 7,10 GBq (192 mCi) em um volume de 1 mL^[27]. Por fim, nos animais controle foi repetido o volume de injeção dos outros grupos, só que com a solução de NaCl 0,9%.

4.2 Estudos de Toxicidade Aguda

4.2.1 Peso Corpóreo

Foram realizadas cinco pesagens, a primeira no 1º dia após a administração e as outras pesagens no 3º, 8º, 10º e 15º dia de

experimento. A FIG. 5 mostra a variação de peso nos grupos de fêmeas no decorrer dos 15 dias de experimento.

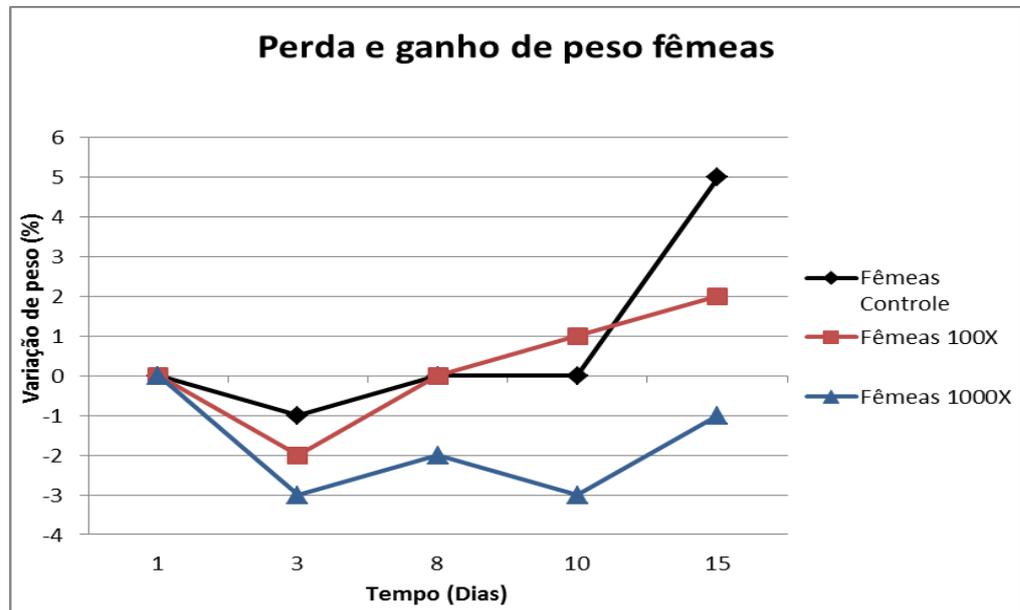


FIGURA 5: Variação de peso em porcentagem entre as fêmeas dos grupos controle, 100X e 1000X, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade aguda.

Pode-se observar que a variação de peso ocorreu para todos os grupos de fêmeas após dois dias da administração, no 3º dia, onde ocorreu uma redução de 3%.

Após a queda de peso foi observado que as fêmeas a partir do 3º dia até ao final do experimento ganharam peso e esse ganho de peso não passou de 5% do valor inicial. Somente as fêmeas do grupo de 1000X não conseguiram recuperar o peso inicial, ficando com a diferença de -1% do valor inicial. Estatisticamente a variação de peso das fêmeas não foi significativa, para afirmar alguma toxicidade provinda da administração do ^{18}F -FDG, quando os grupos de 100X e o grupo de 1000X foram comparados com o grupo controle (FIG. 6)

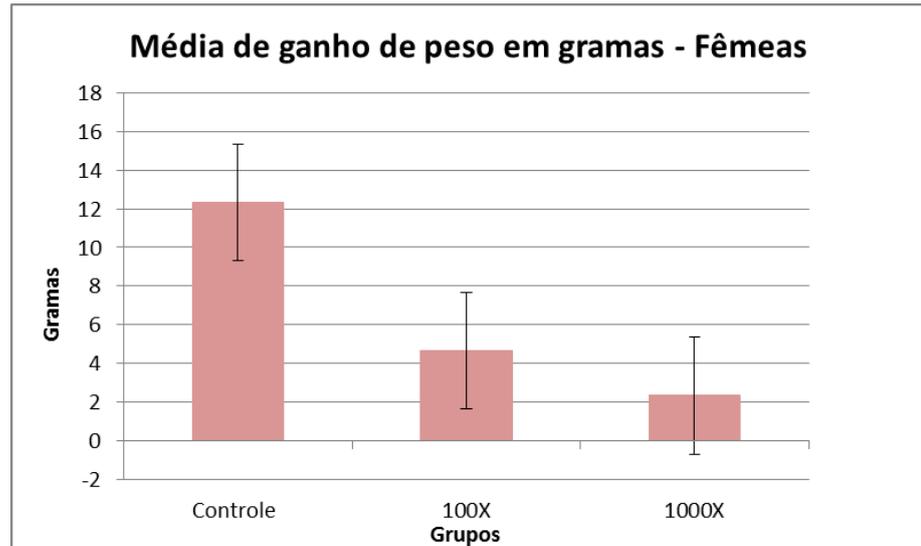


FIGURA 6: Média de variação de peso + Desvio Padrão entre as fêmeas, após a injeção, na toxicidade aguda. Esses valores foram comparados por ANOVA e Dunnett's considerando diferenças significativas aquelas cujo valor de p mostrou-se menor que 0,05.

A FIG.7 demonstra a variação de peso em porcentagem entre os machos. Os grupo controle e de 1000X mantiveram seus pesos após 2 dias da administração, no 3º dia, o que não ocorreu para o grupo de 100X que demonstrou uma redução de 1% do seu peso inicial. Após o 3º dia de injeção, todos os grupos de machos ganharam peso até o final do experimento, onde esse ganho não passou de 5% do valor do peso inicial.

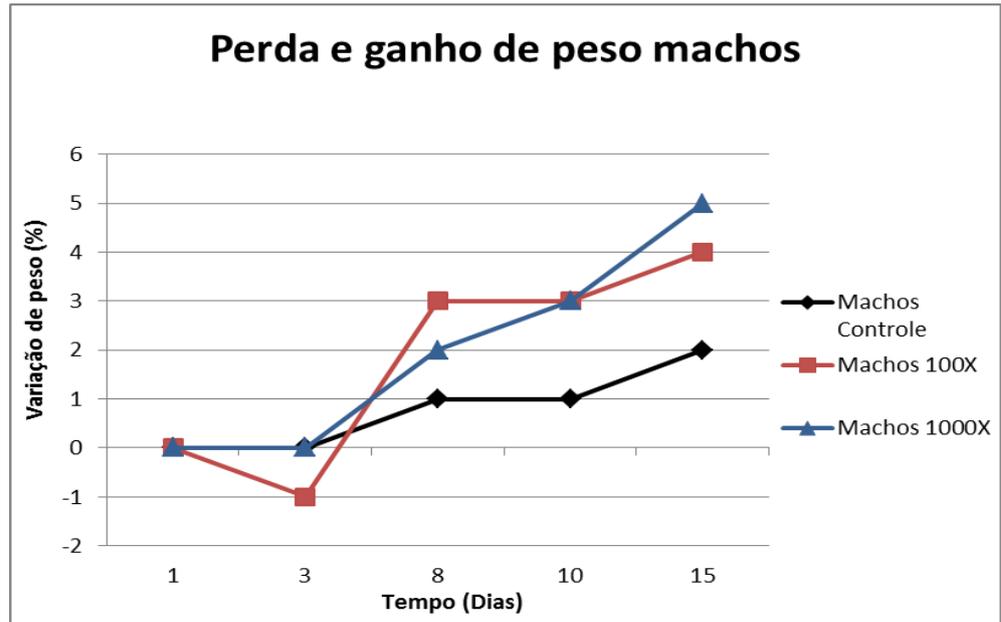


FIGURA 7: Variação de peso em porcentagem entre os machos dos grupos controle, 100X e 1000X, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade aguda.

Igual às fêmeas, a variação de peso dos machos também não foi significativa, quando os grupos foram comparados com o grupo controle. (FIG.8)

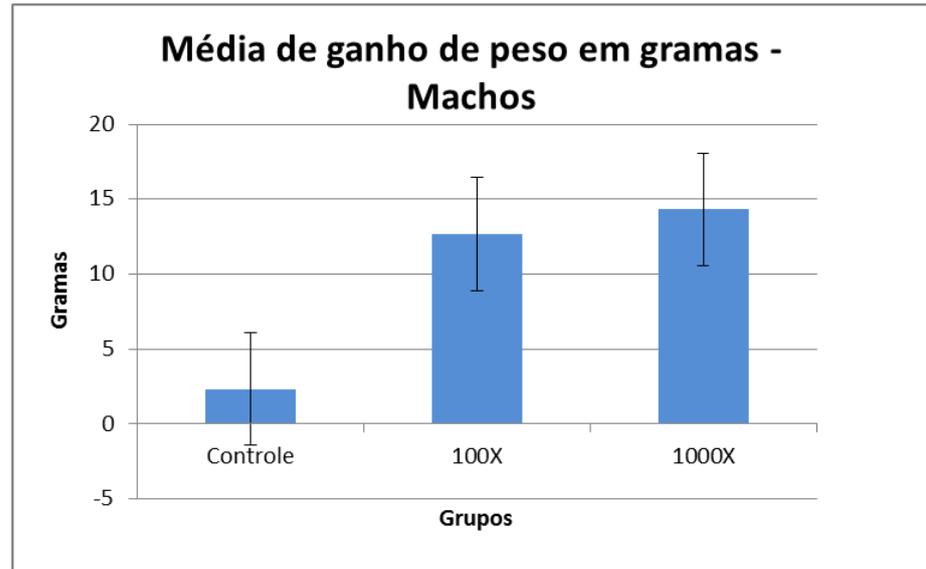


FIGURA 8: Média de variação de peso + Desvio Padrão entre os machos, após a injeção, na toxicidade aguda. Esses valores foram comparados por ANOVA e Dunnett's considerando diferenças significativas aquelas cujo valor de p mostrou-se menor que 0,05.

A FIG. 9 mostra a variação de peso da população dos grupos, durante os 15 dias de experimento.

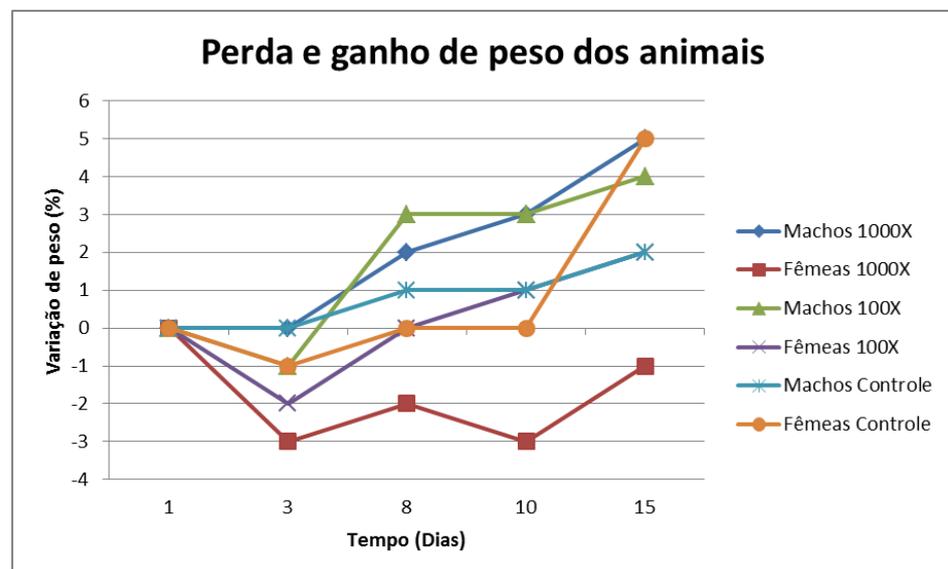


FIGURA 9: Variação de peso em porcentagem entre a população de animais, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade aguda.

A maior perda de peso foi observada principalmente nos grupos de fêmeas, que demonstraram sinais de stress muito maior do que os machos na hora e após a administração, o que pode ter contribuído para este dado.

No decorrer dos dias do experimento, mesmo existindo a redução do peso dos animais em determinados dias, a tendência de ganhar peso se mostrou similar em todos os grupos.

4.2.2 Consumo de água

Os resultados do consumo de água para as caixas dos grupos de fêmeas podem ser vistos na FIG.10. A média de consumo de água diário foi obtida através do valor de água consumido da medição diária, menos o valor inicial do bebedouro 900 mL, após obter o valor do consumo de água, este valor era dividido pela quantidade de dias após a última medição.

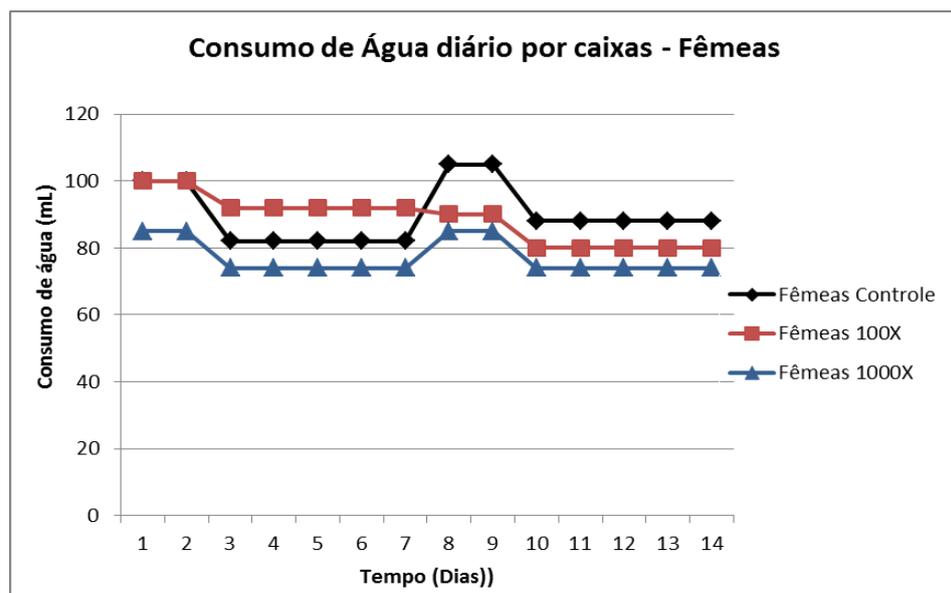


FIGURA 10: Média do consumo diário de água em mL por caixas, das fêmeas do grupo controle, 100X e 1000X, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade aguda.

A média de consumo diário de água ao final do experimento para as fêmeas do grupo controle ficou em 90mL, para as fêmeas do grupo de 100X ficou em 88mL e para as fêmeas do grupo de 1000X foi 77mL.

Estatisticamente quando os grupos foram comparados por Dunnett's, somente o consumo de água mais baixo das fêmeas do grupo de 1000X foi significativo, quando comparado com o grupo controle. Estes dados não evidenciam alguma relação de toxicidade com a administração de ^{18}F -FDG.

No caso dos machos as médias de consumo diário de água por caixa ficaram em 120mL para o grupo controle, 88mL para o grupo de 100X e de 94mL para os machos de 1000X. (FIG. 11)

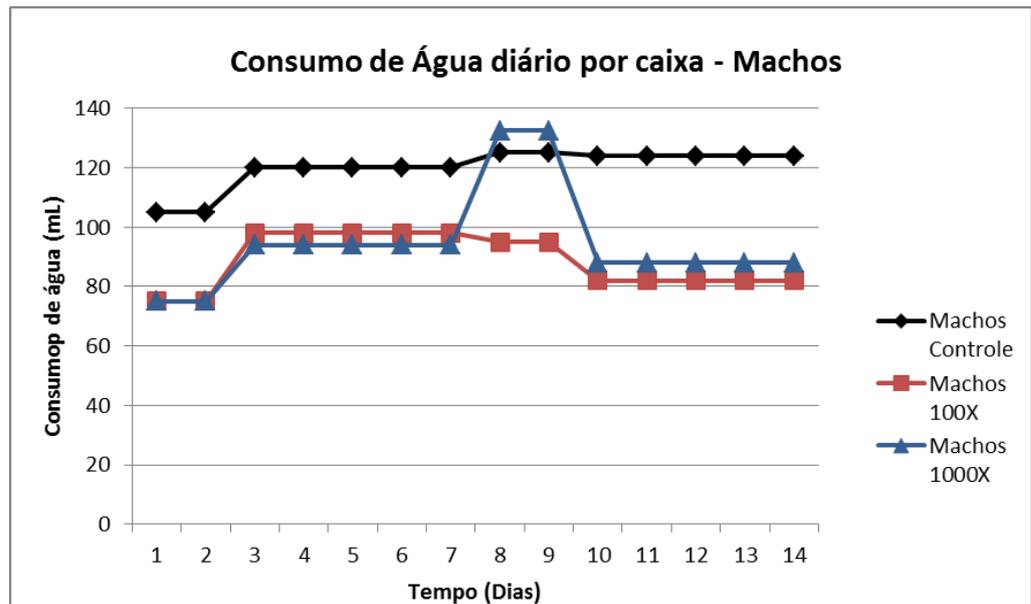


FIGURA 11: Média do consumo diário de água em mL por caixas, dos machos do grupo controle, 100X e 1000X, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade aguda.

Estatisticamente, foi significativa a diferença do consumo de água entre o grupo controle e o grupo de 100X e o grupo controle com o grupo 1000X. Essa diferença pode sugerir um defeito no bebedouro onde estava vazando água ou mesmo um consumo acima da média, mas nada que implique com a administração de ^{18}F -FDG, pelo fato do consumo de água ser uma análise inicial e que tem por finalidade complementar os estudos mais precisos deste trabalho, como necropsia e histopatológico.

A FIG. 12 mostra o consumo de água da população de animais, na toxicidade aguda.

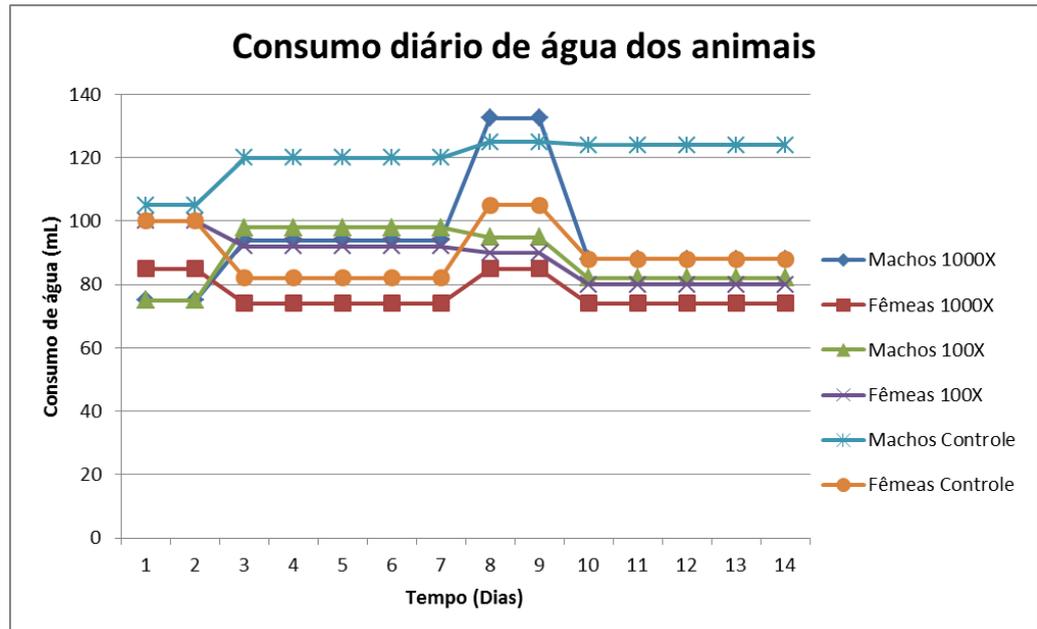


FIGURA 12: Média do consumo diário de água em mL por caixas, da população de animais, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade aguda.

4.2.3 Sinais Clínicos

Os sinais clínicos mais comuns demonstrados pelos animais durante e após a administração foi o de stress e de hematomas no local da injeção, principalmente nos animais do grupo de 1000X, devido ao grande volume injetado (1mL). Houve agitação na maior parte dos animais, principalmente nas fêmeas, onde a maioria apresentou sinais de muito stress como gritos, irritabilidade e ataques nos momentos de administração e manipulação. Sangramento nasal foi observado em uma fêmea do grupo controle e um macho também do grupo controle, devido ao grande volume injetado.

Além dos sinais de stress, nenhum animal apresentou algum sinal clínico que poderia evidenciar alguma toxicidade causada pelo radiofármaco.

4.2.4 Necropsia

Os animais que foram encaminhados para necropsia e o exame histopatológico neste estudo, estão descritos na TAB. 10.

TABELA 10: Animais encaminhados para a necropsia e histopatologia.

Grupos	Animais
Controle	Rato 1 – Fêmea 100X Rato 4 – Macho 100X Rato 3 – Fêmea 1000X Rato 5 – Macho 1000X
100X	Rato 2 – Fêmea Rato 5 – Macho
1000X	Rato 1 – Fêmea Rato 5 – Macho

A necropsia consistiu em observar e detectar externamente alterações no estado geral do animal, incluindo estado nutricional, presença de ectoparasitas, escaras e escoriações, cicatrizes, presença de neoplasia, alterações cadavéricas, exame de cavidade oral e situação das mucosas (oral, ocular, vaginal, peniana e anal) ^[38].

Os animais foram encaminhados à necropsia logo após a sua morte. O exame externo de todos os animais detectou bom estado nutricional, mucosas pálidas e pequena quantidade de fezes firmes em região perineal. (ANEXO A)

Os dados necroscópicos mostraram-se iguais para todos os ratos, exceto para um único rato do grupo de 1000X, que em vez de apresentar congestão pulmonar difusa grave como os outros, apresentou congestão pulmonar difusa discreta. (TAB. 11) (ANEXO A)

TABELA 11: Achados encontrados na necropsia realizada nos grupos de estudo da toxicidade aguda do ^{18}F -FDG, com 4 animais no grupo controle, 2 animais cada o grupo de 100X e de 1000X.(TAB.10) (ANEXO A)

Achados Macroscópicos	Controle	100X	1000X
Congestão pulmonar difusa grave	4/4	2/2	1/2
Congestão pulmonar difusa discreta	0/4	0/2	1/2
Congestão esplênica difusa grave	4/4	2/2	2/2
Congestão hepática difusa grave	4/4	2/2	2/2
Grande quantidade de alimento pastoso amarelado no intestino e estômago	4/4	2/2	2/2
Congestão renal bilateral moderada	4/4	2/2	2/2
Congestão difusa branda no SNC	4/4	2/2	2/2

Demais órgãos e tecidos dentro dos padrões morfológicos macroscópicos da normalidade, incluindo baço, pâncreas, testículos, adrenais e SNC.

A necropsia em geral, apontou a causa da congestão pulmonar, hepática, renal e do SNC para o CO_2 , ou seja, a causa da morte dos animais. O CO_2 promoveu um aumento de volume e fluxo sanguíneo nos órgãos, a fim de recuperar a oxigenação dos mesmos, através do aumento de hemácias ^[29,30].

A presença de grande quantidade de alimento pastoso no intestino e estômago é um achado normal, pois representa a ração que estava sendo digerida antes da morte dos animais.

Este laudo não apontou nenhuma evidência de que o material injetado seja tóxico em uma única exposição aguda.

4.2.5 Histopatológico

Os animais utilizados no histopatológico foram os mesmos da necropsia. (TAB.10)

Todos os animais foram encaminhados ao laboratório terceirizado logo após a sua morte, para a realização da necropsia e do histopatológico. Foram realizadas lâminas com os órgãos alvos do radiofármaco como cérebro, coração, fígado, rins e bexiga. Essas lâminas foram fixadas com os tecidos de cada órgão e foram coradas com hematoxilina-eosina.

O exame histológico dos órgãos alvos complementou e confirmou os mesmos dados do exame necroscópico, a congestão sanguínea em todos os órgãos alvos devido ao CO_2 . (TAB. 12) (ANEXO A)

TABELA 12: Laudo histopatológico das lâminas dos órgãos alvos, coração, fígado, rins, bexiga e cérebro de cada grupo de animais da toxicidade aguda do ¹⁸F-FDG. (ANEXO A)

Achados Histopatológicos	Controle	100X	1000X
Coração: Congestão difusa discreta no miocárdio.	4/4	2/2	2/2
Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar discreta dos hepatócitos em região centrolobular.	3/4	1/2	0/2
Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar moderada dos hepatócitos e foco de infiltrado inflamatório misto;	1/4	0/2	0/2
Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar moderada dos hepatócitos e foco de infiltrado neutrofílico discreto centrolobular;	0/4	1/2	2/2
Rins: Congestão difusa grave com presença de conteúdo proteico róseo amorfo no interior dos túbulos renais;	4/4	0/2	0/2
Rins: Congestão difusa grave com presença de conteúdo proteico róseo amorfo no interior dos túbulos renais e focos de autólise tubular;	0/4	2/2	2/2
Bexiga: Cistite focal linfocitária discreta;	1/4	0/2	0/2
Bexiga: Descamação epitelial discreta;	3/4	2/2	2/2
S.N.C.: Congestão difusa branda a moderada	4/4	2/2	2/2

Coração

Nas lâminas de coração dos animais do grupo controle, 100X e 1000X é possível visualizar a congestão difusa discreta na musculatura esquelética do coração, onde pequenas quantidades de hemácias são encontradas dentro dos vasos sanguíneos (FIG. 13). Este é um achado normal como também pode ser proveniente do uso de CO₂, utilizado na eutanásia dos animais, pois aparece em animais de todos os dos grupos.

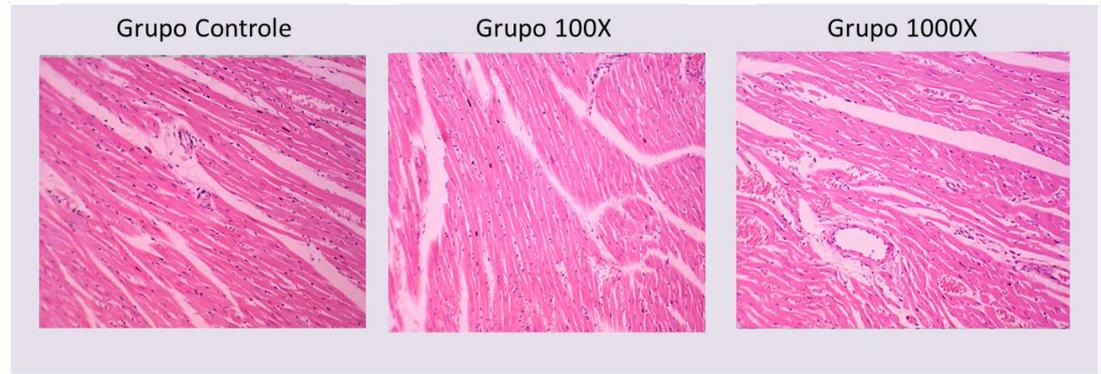


FIGURA 13: Lâminas da musculatura esquelética do coração e vasos visualizada do grupo controle (fêmea) em comparação com as lâminas das fêmeas dos grupos 100X e 1000X.

Fígado

A FIG. 14 mostra 4 lâminas de fígados com congestão difusa grave, comum em todos os ratos devido a utilização de CO₂. A degeneração vacuolar dos hepatócitos, presente em todos os ratos, foi devida ao acúmulo de gordura ou glicogênio, causada pela dieta da ração. Além de ter sido encontrado em um único animal do grupo controle, focos de infiltrado inflamatório misto (linfócitos e neutrófilos), o que neste caso é possível que seja proveniente de alguma patologia do próprio rato, sem relação com CO₂ ou com ¹⁸F-FDG. Outro achado presente em ratos do grupo de 100X e de 1000X foi o de foco de infiltrado neutrofílico discreto no centrolobular, que pode ser também proveniente do rato ou não, sendo um dado que foi observado mais atentamente na toxicidade subaguda [28].

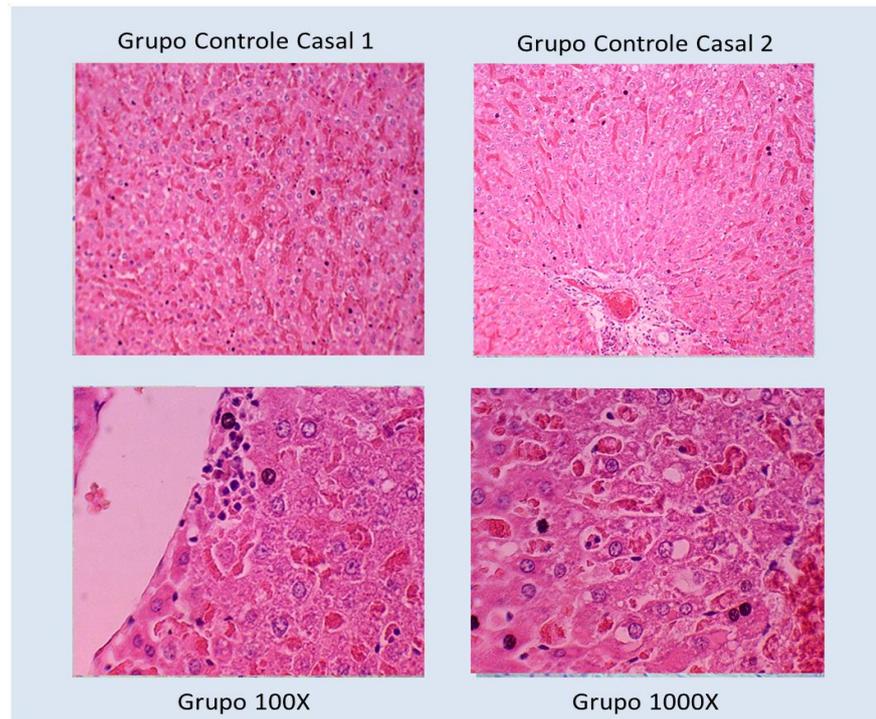


FIGURA 14: Lâminas dos fígados do grupo controle, 100X e 1000X. Na lâmina do grupo controle 1 é possível visualizar a congestão sanguínea grave e a degeneração vacuolar. Na lâmina controle 2 o que difere é a presença de infiltrado misto no espaço porta. Nas lâminas de 100X e 1000X, observam-se focos discretos de neutrófilos, em roxo.

Portanto, estatisticamente os achados nas lâminas de fígado não foram significativos o suficiente para concluir alguma toxicidade relacionada com o ^{18}F -FDG, assim sendo observado e melhor avaliado nos achados da toxicidade subaguda.

Rins

Nas lâminas dos rins é possível observar os glomérulos e túbulos renais completamente normais em todos os animais

A FIG. 15 demonstra todos os animais do grupo controle, 4 do grupo de 100X e do grupo de 1000X com congestão difusa grave, que é devido ao uso do CO_2 . Também em todas as lâminas dos ratos do grupo controle, 100X e 1000X foi possível observar a presença de proteínas nos túbulos

renais provenientes da ração. A única diferença encontrada nas lâminas do grupo de 100X e 1000X foram a autólise tubular, sendo um achado normal e que está relacionado com a decomposição do tecido do animal, sem relação nenhuma com o ^{18}F -FDG.

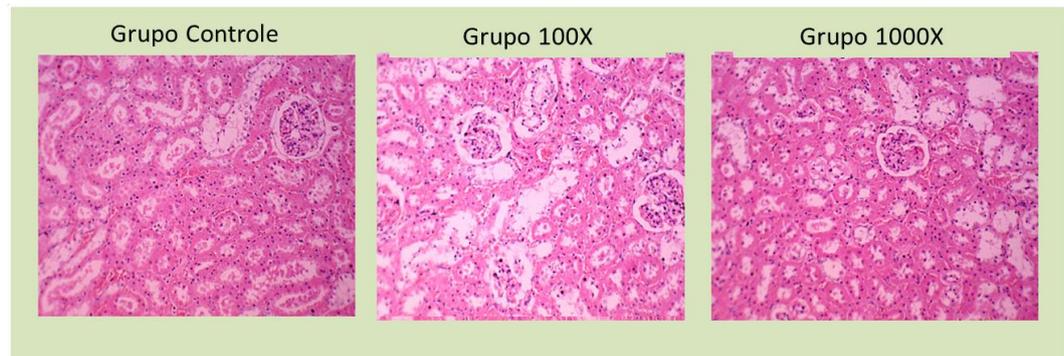


FIGURA 15: Lâminas dos rins, glomérulos e congestão difusa grave nos grupos controle, 100X e de 1000X.

Enfim, estatisticamente os achados nas lâminas de rins não foram significativos para concluir alguma toxicidade aguda relacionada com o ^{18}F -FDG

Bexiga

Nas lâminas de bexiga é possível visualizar seu epitélio estratificado e camadas musculares lisas, como mostra a FIG. 16. A figura demonstra a descamação epitelial discreta na bexiga, que é observada em todos os grupos e é classificada como um achado histológico normal, portanto não existe relação com o radiofármaco e nem com CO_2 . Somente uma única rata 1 do controle, foi detectada com cistite, que pode ter se desenvolvido durante o experimento, mas é do próprio animal, novamente sem relação com o radiofármaco. Estatisticamente, este achado não foi significativo, pois todas as outras lâminas se apresentaram normais.

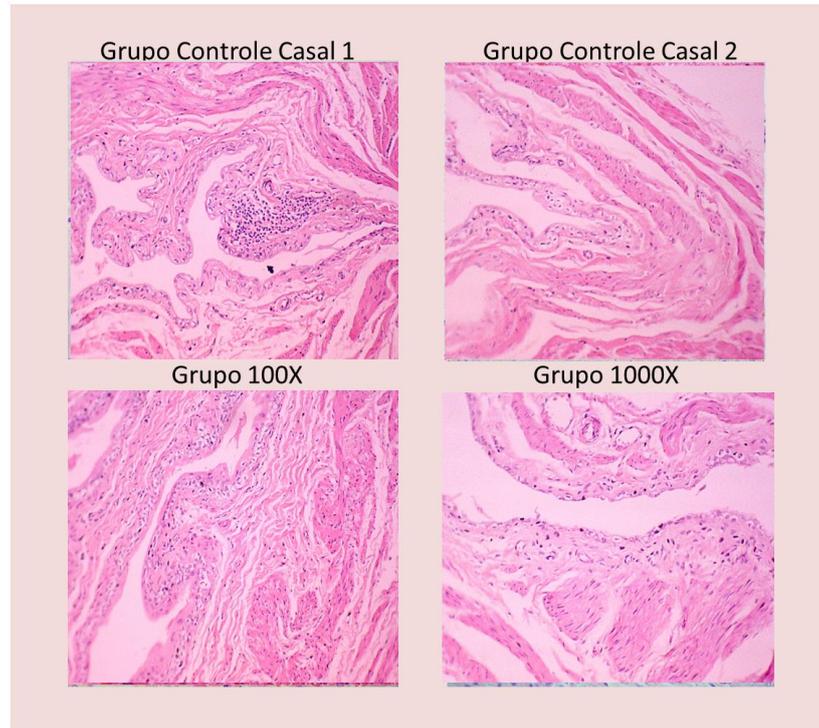


FIGURA 16: Lâminas da bexiga, epitélio estratificado com células descamando e camadas musculares lisas, nos grupos controle 1 (foco linfocitário de cistite) e 2, 100X e 1000X apresentam-se normais.

Cérebro

As lâminas do cérebro de todos os animais apresentaram congestão difusa moderada, evidenciando mais uma vez a utilização do CO₂. Fora a congestão, foi possível observar os neurônios, a matriz celular e vasos sanguíneos nas lâminas dentro dos padrões de normalidade (FIG.17). As lâminas não representaram nenhuma alteração significativa, sem indicação de toxicidade do ¹⁸F-FDG.

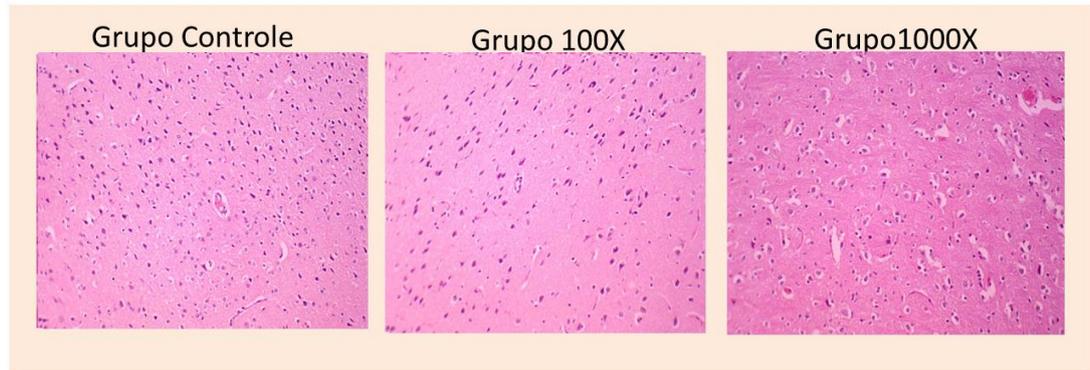


FIGURA 17: Lâminas dos cérebros, neurônios, matriz celular e vasos sanguíneos com uma congestão difusa moderada, nos grupos controle, 100X e 1000X.

Por fim, o laudo histopatológico para a toxicidade aguda, evidenciou apenas achados da causa da morte dos animais e achados comuns em laudos histopatológicos, porém não se constatou nenhum dado relevante que pudesse ser relacionado à injeção do ^{18}F -FDG.

4.3 Estudos de Toxicidade Subaguda

4.3.1 Peso Corpóreo

A perda e ganho de peso foi avaliada durante o período de 28 dias de experimento. As pesagens foram realizadas no 1º dia de experimento, após a administração e depois nos dias 3º, 8º, 10º, 15º, 17º, 22º, 24º e 28º de experimento.

A FIG. 18 mostra a variação de peso das fêmeas no decorrer do experimento.

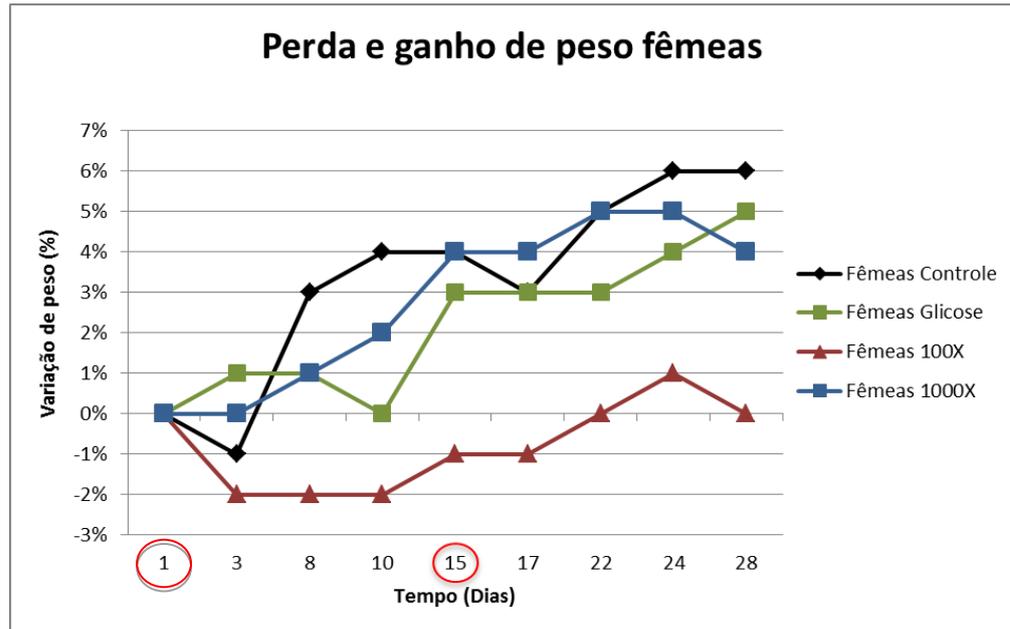


FIGURA 18: Variação de peso em porcentagem entre as fêmeas dos grupos controle, 100X e 1000X, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade subaguda.

Pode-se observar que ocorreu variação de peso para todos os grupos de fêmeas, onde após o primeiro dia de injeção ocorreu uma queda de peso nas fêmeas de 100X que foi de 2% e no grupo controle foi de 1% do valor do peso inicial, podendo estar relacionado com o stress sofrido na injeção. As outras fêmeas do grupo de 1000X mantiveram o peso inicial e no grupo glicose as fêmeas ganharam 1% de peso. Após este período todos os grupos de fêmeas mantiveram ou ganharam peso até o 15º dia de experimento, no qual o ganho não ultrapassou mais que 4%. No 15º dia de experimento foi injetada a segunda dose, e após 2 dias de administração somente o grupo controle teve uma perda de peso de 1% o restante dos grupos de fêmeas mantiveram seus pesos, novamente o stress e incomodo da injeção pode estar relacionado. Ao final do experimento o grupo controle obteve o maior ganho de peso que foi de 6%, o grupo glicose ficou com 5%, o grupo de 100X teve um ganho que não ultrapassou 1% e ao último dia, voltou ao peso inicial e por fim o grupo de 1000X teve um ganho de

5%, mas no último dia perdeu e ficou com 4% de ganho de peso do valor inicial.

Estatisticamente essa variação de peso para as fêmeas não foi significativa, para afirmar alguma toxicidade gerada através da administração de 100 a 1000 vezes a mais dose de ^{18}F -FDG padrão quando comparados com o grupo controle e ao da glicose (FIG. 19).

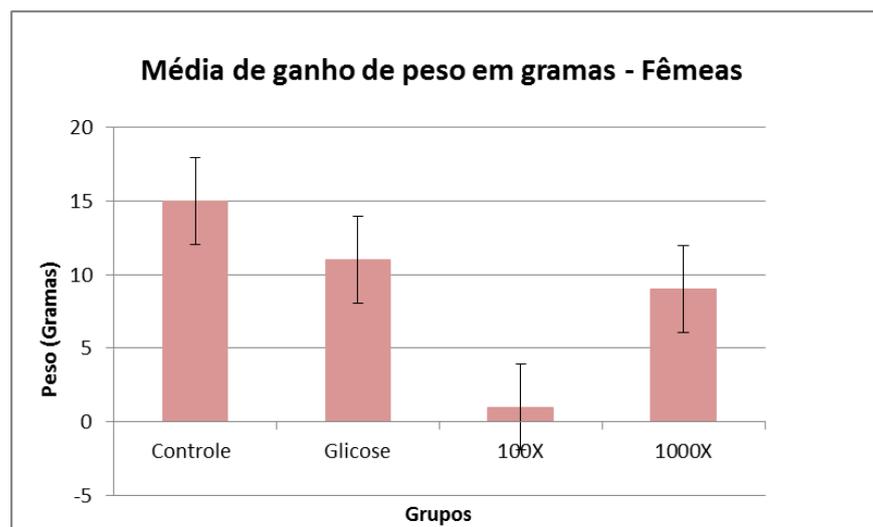


FIGURA 19: Média de variação de peso + Desvio Padrão entre as fêmeas, após a injeção, na toxicidade subaguda. Esses valores foram comparados por ANOVA e Dunnett's considerando diferenças significativas aquelas cujo valor de p mostrou-se menor que 0,05.

No caso dos machos a FIG. 20 mostra a variação de peso, que se apresentou bastante semelhante entre os grupos.

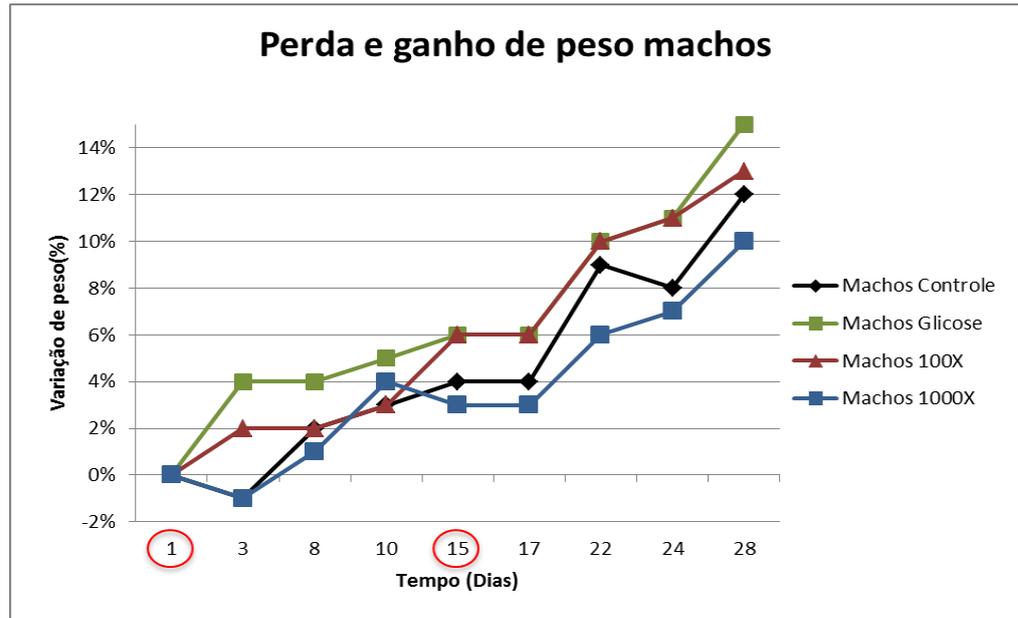


FIGURA 20: Variação de peso em porcentagem entre os machos dos grupos controle, 100X e 1000X, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade subaguda.

Após o 1º dia de injeção os grupos controle e de 1000X apresentaram uma redução de peso de 1%, que como as fêmeas pode estar relacionado com o stress da administração. Os grupos glicose e 100X demonstraram ganho de 4% e 2%, respectivamente. Até o 15º dia, quando aconteceu a segunda administração, todos os grupos ganharam peso. Após a injeção desta segunda dose, todos os grupos mantiveram seus pesos, novamente o stress e incomodo da injeção pode estar relacionado. Até o último dia de experimento, todos os animais acabaram ganhando mais peso. O ganho do grupo controle fechou em 12%, o grupo glicose 15%, o grupo de 100X 13% e o de 1000X em 10% a mais do valor de peso inicial.

Igual as fêmeas, os grupos de machos quando comparados estatisticamente demonstrou que variação de peso não foi significativa, para relacionar toxicidade à exposição ao ^{18}F -FDG. (FIG 21)

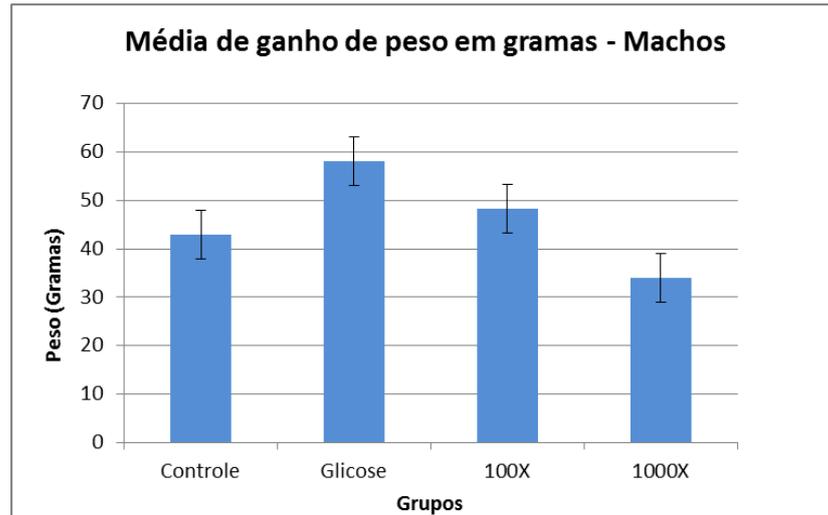


FIGURA 21: Média de variação de peso + Desvio Padrão entre os machos, após a injeção, na toxicidade subaguda. Esses valores foram comparados por ANOVA e Dunnett's considerando diferenças significativas aquelas cujo valor de p mostrou-se menor que 0,05.

A FIG. 22 apresenta a variação de peso avaliada entre os diferentes grupos de animais.

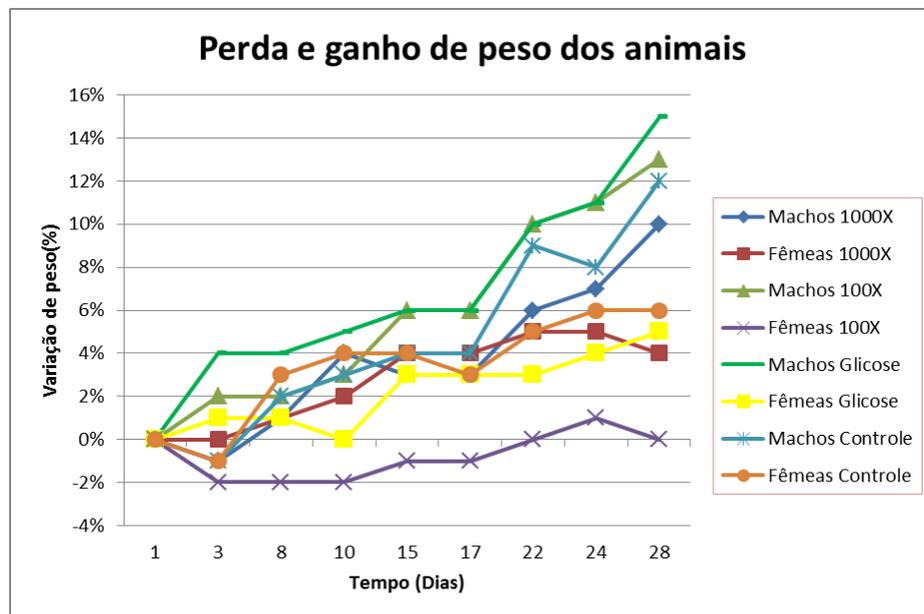


FIGURA 22: Variação de peso em porcentagem entre a população de animais, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade subaguda.

4.3.2 Consumo de água e ração

A média de consumo de água diário foi obtida através do valor de água consumido da medição diária, menos o valor inicial do bebedouro 900 mL, após obter o valor do consumo de água, este valor era dividido pela quantidade de dias após a última medição.

A FIG. 23 mostra o consumo diário das caixas das fêmeas, onde a média final do consumo das caixas foram de 87,4 mL para o grupo controle, 117,5 mL para o grupo glicose, 89,4 mL para o grupo 100X e 88,5 mL para o grupo de 1000X.

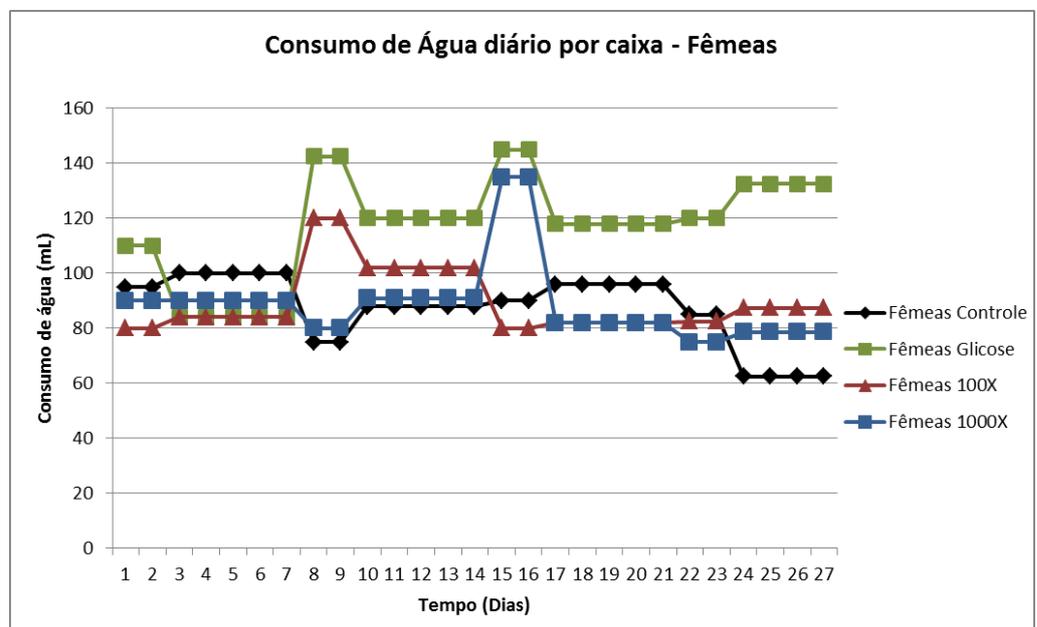


FIGURA 23: Média do consumo diário de água em mL por caixas, das fêmeas do grupo controle, 100X e 1000X, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade subaguda.

As médias se apresentaram de forma parecida, somente o grupo glicose apresentou uma média acima quando comparada com o grupo controle, e estatisticamente quando comparados utilizando Dunnett's, foi significativa esta diferença. Pode ter ocorrido um defeito do bebedouro ou mesmo o consumo foi acima da média, o que não implica em um efeito

resultante da injeção de glicose, devido a massa de glicose injetada ser muito pequena.

A FIG.24 apresenta o consumo de ração diário das fêmeas. A média do consumo final dos grupos ficou em 38,4g de ração para o grupo controle, 39,7g para o grupo glicose, 39,7g para o grupo de 100X e 38,5g para o grupo de 1000X.

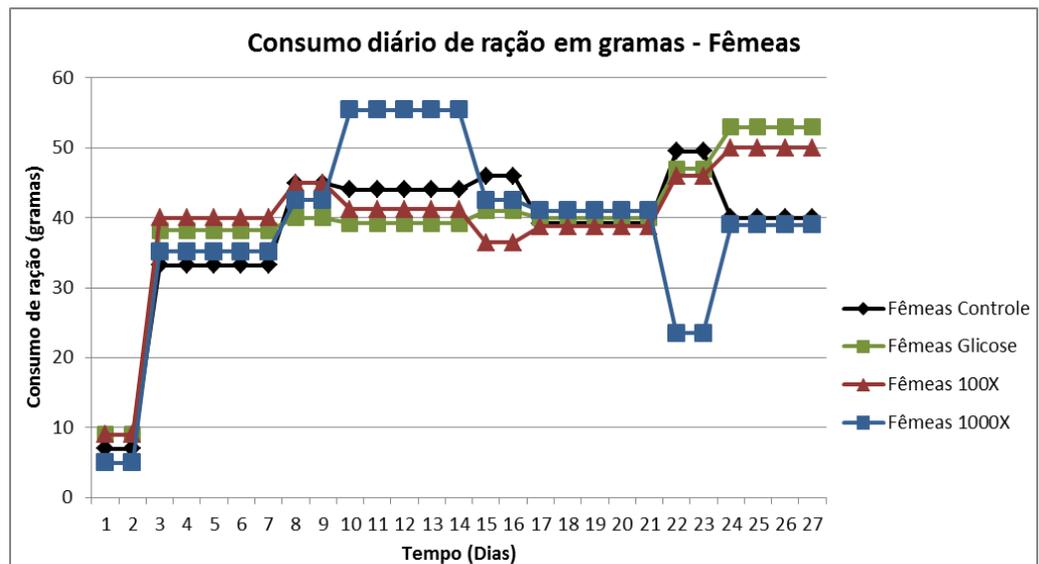


FIGURA 24: Média do consumo diário de ração em gramas por caixas, das fêmeas do grupo controle, 100X e 1000X, após a injeção do $^{18}\text{F-FDG}$, na toxicidade subaguda.

As médias muito próximas ao do grupo controle, levam a afirmar que a administração de somente o veículo (glicose), de 100 e 1000 vezes a mais a dose padrão de $^{18}\text{F-FDG}$, não demonstrou modificações significativas. Mesmo o consumo sendo muito parecido, o grupo que acabou com o maior ganho de peso foi o grupo controle com 6% e o grupo da glicose em segundo com 5%, seguido com o de 1000X com 4% e o de 100X ficaram com o mesmo peso. Estatisticamente, o consumo de ração de todos os grupos não foi significativo para apresentar relação de toxicidade com $^{18}\text{F-FDG}$.

O consumo de água diário das caixas dos machos é demonstrado na FIG. 25.

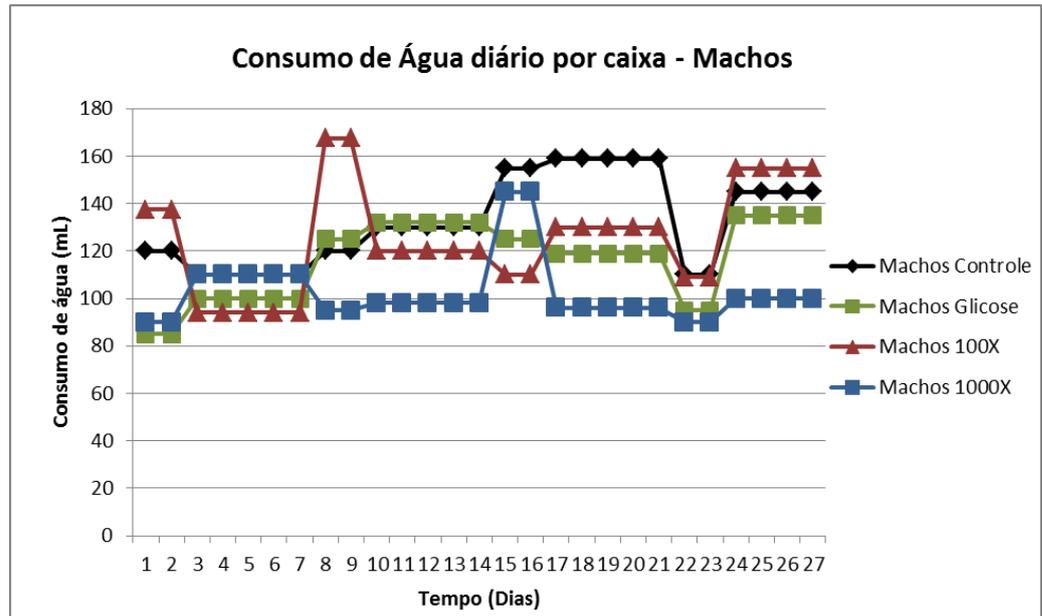


FIGURA 25: Média do consumo diário de água em mL por caixas, dos machos do grupo controle, 100X e 1000X, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade subaguda.

A média do consumo diário final para o grupo controle foi de 132,7 mL, 116,8 mL para o grupo glicose, 125,4 mL para o grupo de 100X e 102,2 mL para o grupo de 1000X. Estatisticamente, foi significativa a diferença do consumo de água entre o grupo controle e o grupo 1000X, novamente essa diferença de consumo de água por caixa, não implica com a administração de ^{18}F -FDG, pelo fato do consumo de água ser uma análise inicial e que tem por finalidade complementar os estudos mais precisos deste trabalho.

A FIG. 26 mostra o consumo de ração diário dos machos. A média de consumo final para o grupo controle foi de 60,7g, 64,8g para o grupo glicose, 62,5g para o grupo de 100X e 56,8g para o grupo de 1000x. Comparando o peso com a quantidade de ração consumida pode-se observar que há relação entre os mesmos, onde o grupo que comeu mais, grupo glicose, foi o que ganhou mais porcentagem de peso 15%, seguindo o grupo de 100X com ganho de 13%, o controle de 12% e o de 1000X com 10%. Estatisticamente, o consumo de ração de todos os grupos não foi significativamente diferente.

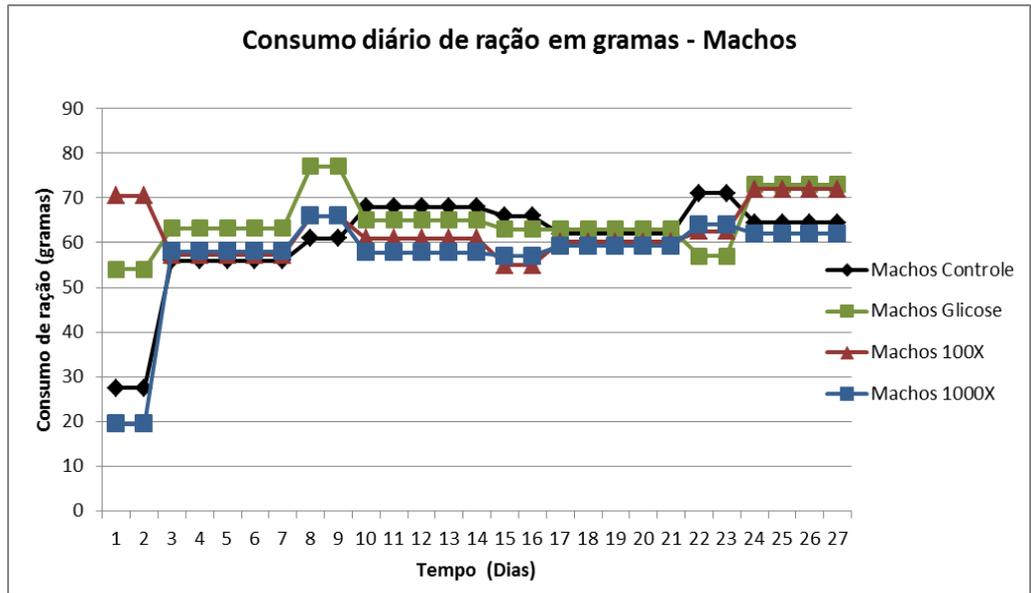


FIGURA 26: Média do consumo diário de ração em gramas por caixas, dos machos do grupo controle, 100X e 1000X, após a injeção do ¹⁸F-FDG, na toxicidade subaguda.

As FIG. 27 e FIG. 28 demonstram o consumo diário de água e de ração da população de animais, respectivamente neste estudo.

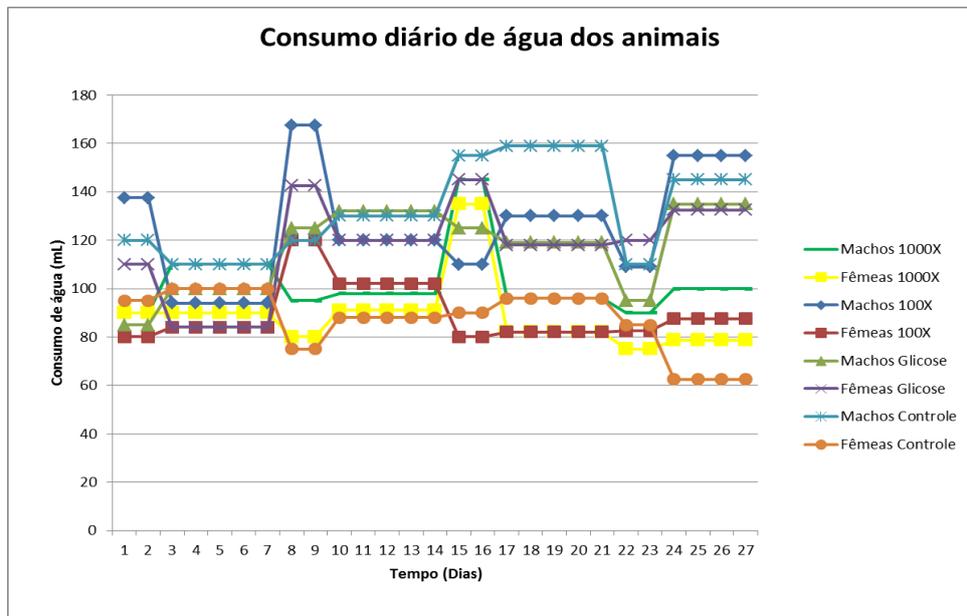


FIGURA 27: Média do consumo diário de água em mL por caixas, da população de animais, após a injeção do ¹⁸F-FDG, na toxicidade subaguda.

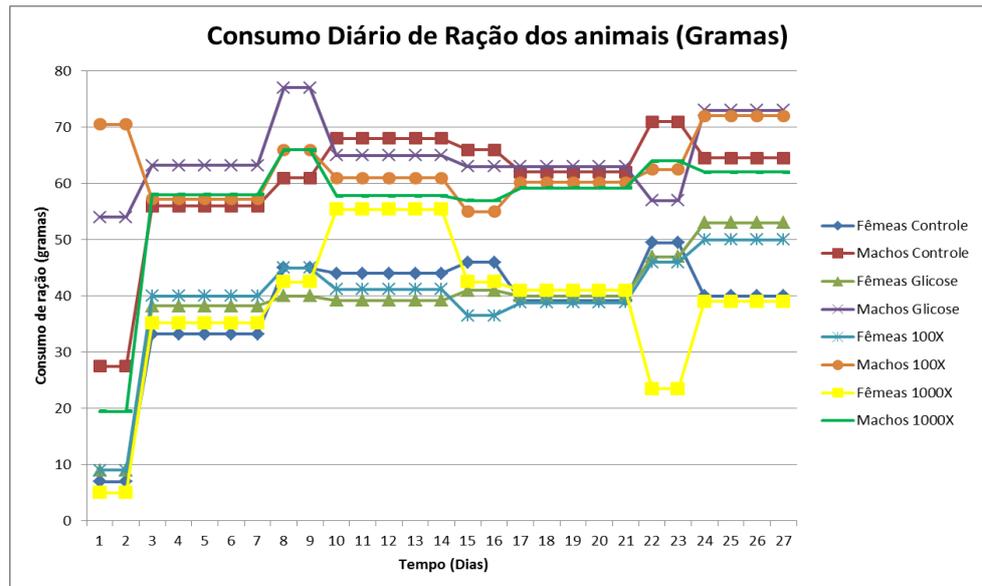


FIGURA 28: Média do consumo diário de ração em gramas por caixas, da população de animais, após a injeção do ^{18}F -FDG, na toxicidade subaguda.

4.3.3 Sinais Clínicos

A maioria dos animais, principalmente as fêmeas apresentaram sinais de stress e agitação durante e após a administração o que pode ter relação e influenciado os valores de peso.

Fora o stress, não foram observados outros sinais clínicos relacionados à administração do ^{18}F -FDG, durante o período de observação de 28 dias.

4.3.4 Necropsia

Este exame consistiu em observar e detectar externamente alterações no estado geral do animal, incluindo estado nutricional, presença de ectoparasitas, escaras e escoriações, cicatrizes, presença de neoplasia, alterações cadavéricas, exame de cavidade oral e situação das mucosas (oral, ocular, vaginal, peniana e anal) [38].

Todos os animais foram encaminhados à necropsia logo após a sua morte. O exame externo de todos os animais detectou bom estado nutricional, mucosas pálidas e pequena quantidade de fezes firmes em região perineal (ANEXO B).

Na TAB. 13 estão descritos os achados macroscópicos para cada grupo de animal, onde cada grupo está representado por 6 animais no total, 3 fêmeas e 3 machos. (ANEXO B)

TABELA 13: Achados encontrados na necropsia realizada nos grupos de estudo da toxicidade subaguda do ^{18}F -FDG, com 6 animais cada. (ANEXO B)

Achados Macroscópicos	Controle	Glicose	100X	1000X
Hemotórax Grave	6/6	6/6	6/6	6/6
Focos de aderência de coágulo sanguíneo em coração	6/6	6/6	6/6	6/6
Congestão e hemorragia pulmonares difusos graves	6/6	6/6	6/6	6/6
Alças intestinais repletas por ingesta e distendidas por gás	6/6	6/6	6/6	6/6
Focos de enterite erosiva discreta a moderada jejuno	2/6	0/6	3/6	2/6
Presença moderada de quantidade de alimento em luz gástrica	6/6	6/6	6/6	6/6
Congestão Hepática moderada e sinais de esteatose discreta	2/6	2/6	3/6	3/6
Bexiga pouco repleta por urina amarelo palha	6/6	6/6	6/6	6/6
Congestão renal difusa bilateral discreta	5/6	2/6	1/6	6/6

Demais órgãos e tecidos dentro dos padrões morfológicos macroscópicos da normalidade, incluindo baço, pâncreas, testículos, adrenais e SNC.

O hemotórax e focos de coágulo sanguíneo no coração foi um achado necroscópico que está relacionado diretamente com a punção cardíaca, feita antes da morte do animal, para coleta sanguínea.

A congestão e hemorragia pulmonar eram esperadas, pelo fato do uso do Tiopental para a anestesia dos ratos. O Tiopental causa depressão respiratória e diminuição das trocas gasosas ^[29,39].

As alças intestinais repletas por ingesta e distendidas por gás, ou seja, alças intestinais com alimentos não digeridos e fermentação destes alimentos é um achado normal de necropsia.

Os focos de enterite erosiva discreta a moderada no jejuno, foram devido ao parasita comum em ratos de biotério, o oxiurídeo, *Syphacia obvelata*, encontrado no ceco e colón do intestino. Embora este nematóide seja considerado pouco patogênico, algumas desordens intestinais são atribuídas a este parasita, como enterite, prolapso retal, impactação fecal e também perda de peso e alteração da resposta imune. A infecção por este parasita ocorre quando a fêmea migra para a região perianal do hospedeiro

e deposita seus ovos, que são disseminados facilmente na gaiola, onde outro hospedeiro ingere esses ovos. Esses ovos podem durar semanas em condições ambientais. Este parasita não tem relação alguma com a administração do radiofármaco $^{18}\text{F-FDG}$ [40,41]. Estatisticamente esta ocorrência não foi significativa, quando os grupos foram comparados com o controle.

A presença de certa quantidade de alimento na luz gástrica também é um achado normal.

A congestão hepática moderada é outro achado normal, pois quando o animal morre o sangue circulante permanece no órgão, no caso fígado. A esteatose hepática não apareceu na maioria dos animais e prevaleceu nos machos, no qual se apresentaram com maior ganho de peso devido ao maior consumo de ração. Estatisticamente não foi significativo, quando os grupos foram comparados com o controle.

Bexiga com pouca quantidade de urina amarela palha, é um achado completamente normal e comum.

Congestão renal discreta também é classificada como um achado de necropsia normal, e não foi significativamente diferente.

Portanto a necropsia não evidenciou nenhuma toxicidade que poderia estar relacionado à administração do $^{18}\text{F-FDG}$.

4.3.5 Histopatológico

O exame histopatológico foi realizado em todos os animais, só que neste exame foram realizadas lâminas somente dos principais órgãos alvos do $^{18}\text{F-FDG}$, que são: coração, cérebro, fígado, rins e bexiga.

Todos os animais foram encaminhados ao laboratório terceirizado logo após a sua morte, para a realização da necropsia e do histopatológico. As lâminas fixadas com os tecidos foram coradas com hematoxilina-eosina.

A TAB. 14 mostra os achados nas lâminas dos respectivos órgãos, dos animais de cada grupo.(ANEXO B)

TABELA 14: Laudo histopatológico das lâminas dos órgãos alvos, coração, fígado, rins, bexiga e cérebro de cada grupo de animais da toxicidade subaguda do ¹⁸F-FDG. (ANEXO B)

Achados Histopatológicos	Controle	Glicose	100X	1000X
Coração: Nenhum achado	6/6	5/6	5/6	6/6
Coração: Miocardite linfoplasmocitária focal moderada com macrófagos no ventrículo direito.	0/6	1/6	0/6	0/6
Coração: Congestão difusa discreta no miocárdio.	0/6	0/6	1/6	0/6
Fígado: Hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta.	2/6	2/6	1/6	0/6
Fígado: Hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta e anisocariose discreta dos hepatócitos com vacuolização nuclear multifocal discreta. Não foram observadas inclusões virais.	2/6	0/6	0/6	3/6
Fígado: Hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta, congestão difusa moderada, degeneração vacuolar microgoticular centrobular discreta dos hepatócitos, anisocariose discreta dos hepatócitos com vacuolização nuclear multifocal discreta. Não foram observadas inclusões virais.	2/6	1/6	1/6	3/6
Fígado: Hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta, com participação de neutrófilos.	0/6	2/6	1/6	0/6
Fígado: Hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta, congestão difusa moderada, degeneração vacuolar micro e macrogoticular centrotubular moderada dos hepatócitos.	0/6	1/6	2/6	0/6
Fígado: Hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta e congestão difusa discreta.	0/6	0/6	1/6	0/6
Rins: Congestão difusa moderada e autólise discreta.	5/6	4/6	0/6	5/6
Rins: Congestão difusa moderada e autólise discreta e raros focos de deposição de material basófilo laminar no interior de túbulos renais.	1/6	1/6	1/6	0/6
Rins: Congestão difusa moderada e autólise discreta, focos de descamação tubular discreta, e raros focos de deposição de material basófilo laminar no interior de túbulos renais.	0/6	1/6	1/6	0/6
Rins: Congestão difusa moderada e autólise discreta, focos de descamação tubular discreta.	0/6	0/6	2/6	1/6
Rins: Congestão difusa moderada e autólise discreta e foco de dilatação de túbulos medulares repletos por material amorfo eosinófilico (sugestivo de material proteináceo) .	0/6	0/6	1/6	0/6
Rins: Autólise discreta, focos de descamação tubular discreta.	0/6	0/6	1/6	0/6
Bexiga: Focos descamação epitelial discreta.	5/6	4/6	5/6	3/6
Bexiga: Nenhum achado	1/6	2/6	1/6	3/6
S.N.C: Nenhum achado	5/6	6/6	5/6	5/6
S.N.C: Congestão difusa discreta	1/6	0/6	1/6	1/6

Coração

As lâminas do coração da maioria dos animais não evidenciaram nenhum achado devido a exposição ao ^{18}F -FDG. As FIG.29 e FIG.30 demonstram a musculatura esquelética e vasos sanguíneos das fêmeas e dos machos, visualmente normais. Somente um único rato do grupo glicose apresentou uma miocardite linfoplasmocitária focal moderada com macrófagos no ventrículo direito (FIG. 31). Neste caso não existe ligação alguma desta patologia com a administração ^{18}F -FDG e nem com a punção cardíaca, pois na verdade o próprio animal pode ter desenvolvido alguma infecção local ou uma lesão mais crônica. Estatisticamente um único animal apresentando esta patologia, não é significativo.

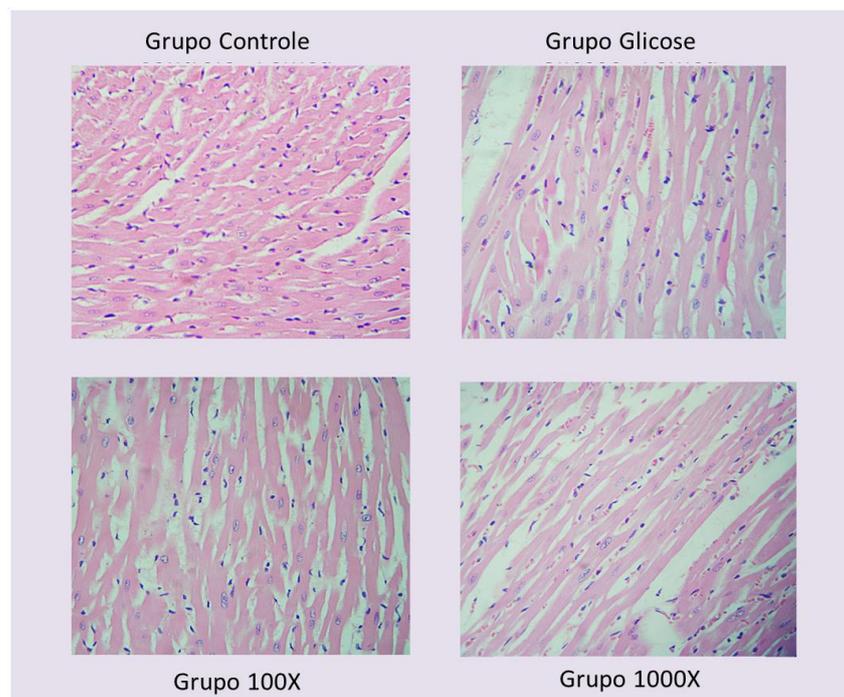


FIGURA 29: Lâminas da musculatura esquelética do coração e vasos sanguíneos da fêmea do grupo controle em comparação com as lâminas das fêmeas dos grupos glicose, 100X e 1000X. As lâminas apresentam-se normais.

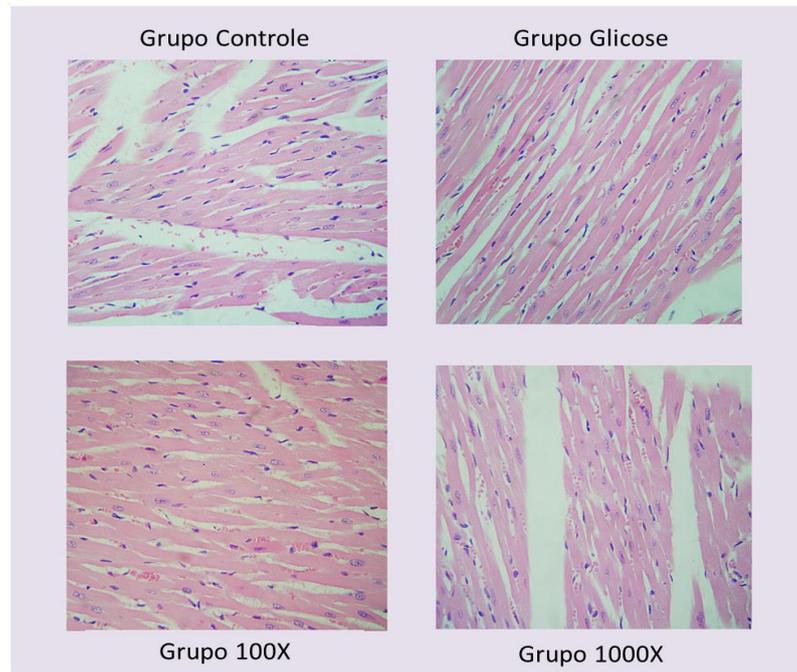


FIGURA 30: Lâminas da musculatura esquelética do coração e vasos sanguíneos do macho do grupo controle em comparação com as lâminas dos machos dos grupos glicose, 100X e 1000X. Aparentemente todas as lâminas estão normais.

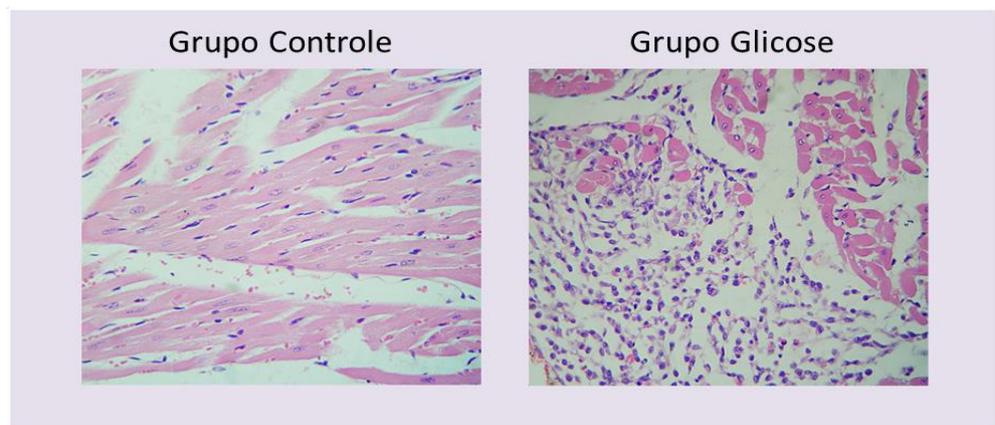


FIGURA 31: Lâminas da musculatura esquelética do coração e vasos sanguíneos normais do macho do grupo controle em comparação com a lâmina do único rato do grupo glicose, com miocardite no coração.

Um único animal do grupo de 100X, apresentou uma lâmina de coração com congestão sanguínea difusa discreta do miocárdio, o que é um achado normal (FIG. 32).

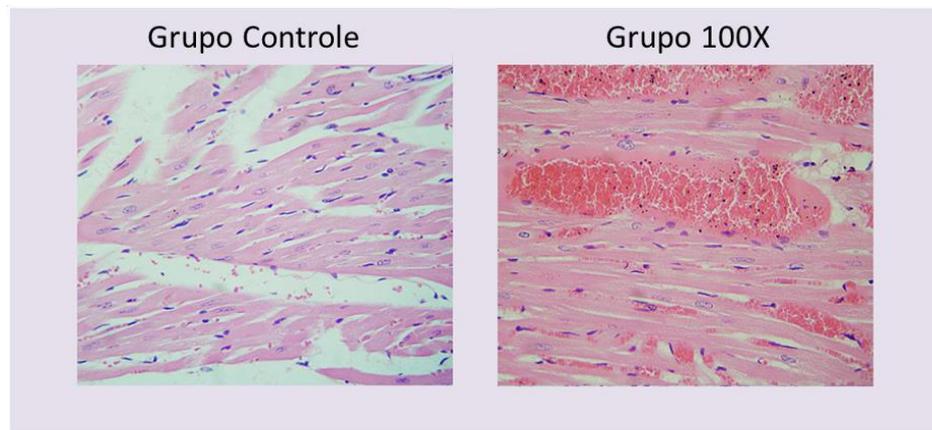


FIGURA 32: Lâminas da musculatura esquelética do coração e vasos sanguíneos normais do macho do grupo controle em comparação com a lâmina do único rato do grupo de 100X, com congestão no coração, onde é possível visualizar uma maior quantidade de hemácias nos vasos sanguíneos.

Fígado

Nas lâminas de fígado, todos os animais apresentaram hepatite. A FIG. 33 mostra as lâminas de 2 animais do grupo controle, 2 da glicose e 1 de 100X com resultado de hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta. A observação deste achado se encontra na área do espaço porta com infiltrado de células inflamatórias, os linfócitos.

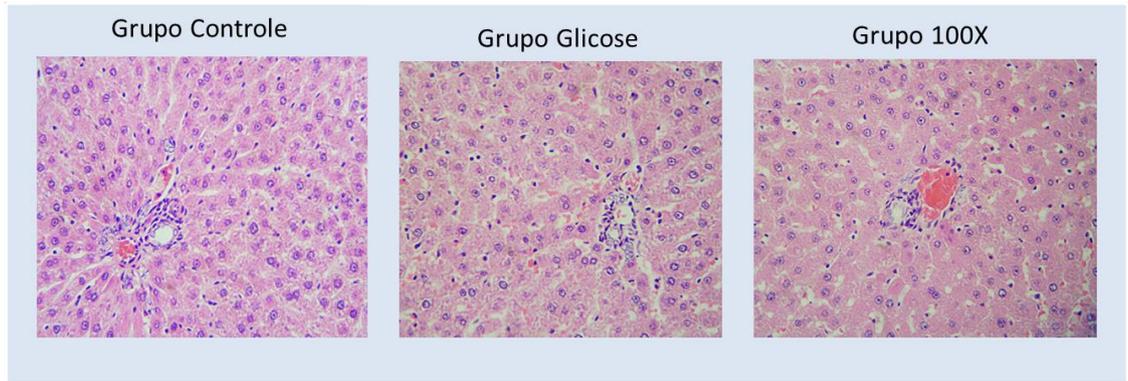


FIGURA 33: Lâminas dos fígados de ratos, espaço porta com infiltrado de linfócitos, nos grupos controle, glicose e 100X.

Em 2 animais do grupo controle e 3 do grupo de 1000X foi achado nas lâminas do fígado, hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta e anisocariose discreta dos hepatócitos com vacuolização nuclear multifocal discreta sem inclusões virais. É possível novamente observar o espaço porta com infiltrado de linfócitos, como também anisocariose dos hepatócitos, devido a uma resposta regenerativa do fígado decorrente de alguma inflamação (FIG.34).

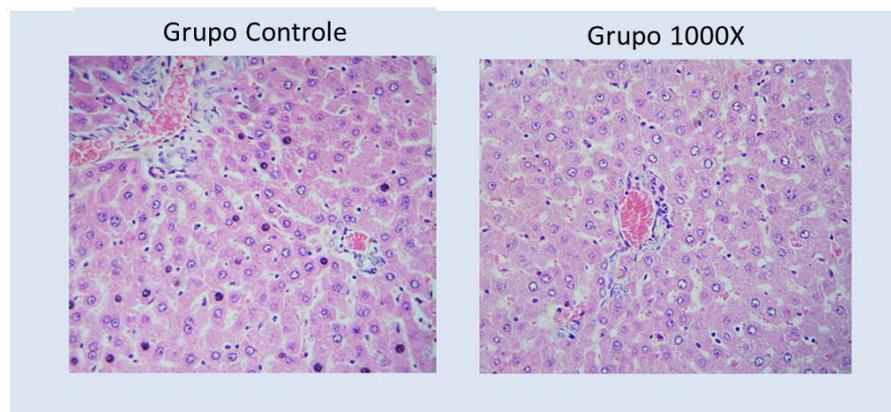


FIGURA 34: Lâminas dos fígados, espaço porta com infiltrado de linfócitos e anisocariose nos grupos controle e 1000X.

A FIG. 35 apresenta as lâminas de animais de todos os grupos com hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta, congestão difusa moderada, degeneração vacuolar microgoticular centrobular discreta dos

hepatócitos, anisocariose discreta dos hepatócitos com vacuolização nuclear multifocal discreta e não foram observadas inclusões virais. A hepatite novamente é observada no espaço porta. A congestão difusa a moderada é um achado normal. A degeneração vacuolar nos hepatócitos aparece no citoplasma, que representa a concentração de glicogênio ou gordura devido a dieta. A anisocariose foi observada devido a regeneração do fígado, devido a algum processo inflamatório, sem inclusões virais.

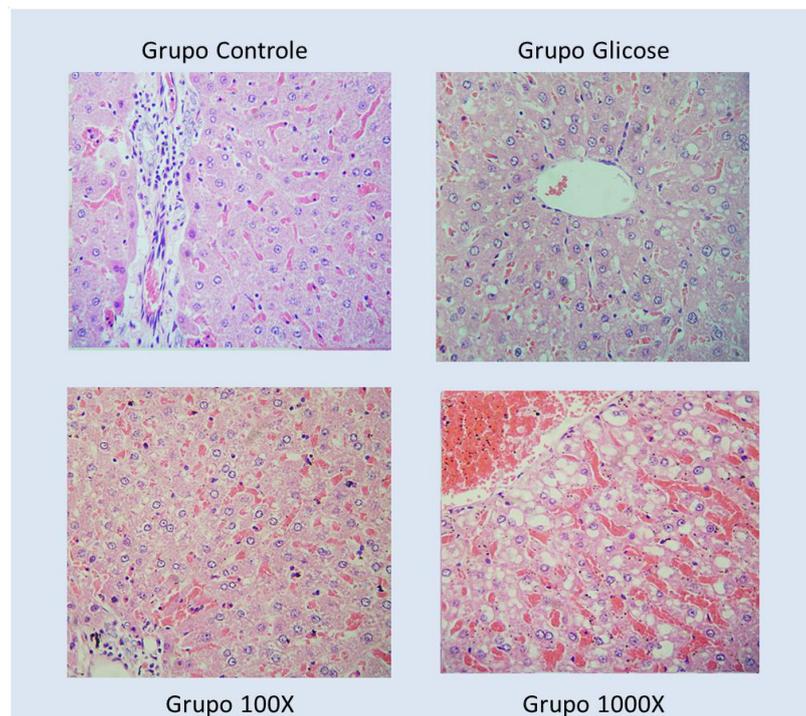


FIGURA 35: Lâminas dos fígados, espaço porta com infiltrado de linfócitos, congestão difusa moderada, degeneração vacuolar e anisocariose nos grupos controle, glicose, 100X e de 1000X.

A FIG. 36 mostra as lâminas de 2 animais do grupo glicose e 1 do grupo de 100X com hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta, na região do espaço porta com participação de neutrófilos.

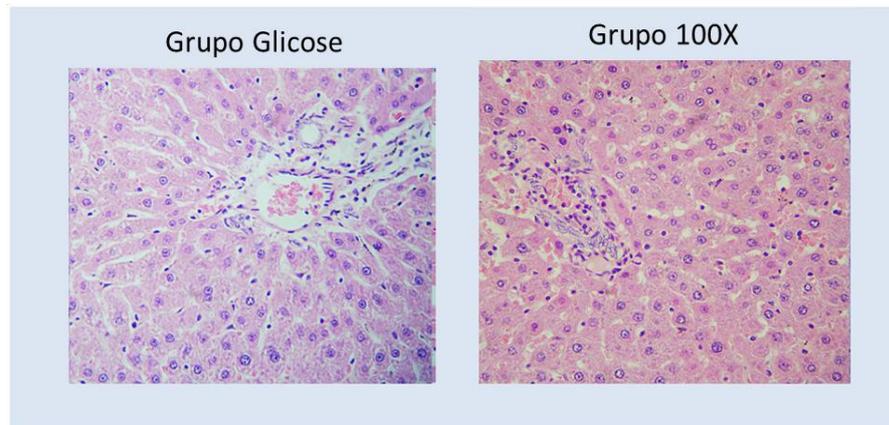


FIGURA 36: Lâminas dos fígados, espaço porta com infiltrado de neutrófilos, nos grupos glicose e 100X.

A FIG. 37 apresenta os animais 1 do grupo glicose e 2 do grupo de 1000X com o resultado de hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta, congestão difusa moderada, degeneração vacuolar micro e macrogoticular centrotubular moderada dos hepatócitos. A hepatite novamente é visualizada no espaço porta com linfócitos. A congestão difusa a moderada é um achado normal. A degeneração vacuolar nos hepatócitos aparece no citoplasma, que representa a concentração de glicogênio ou gordura proveniente da dieta.

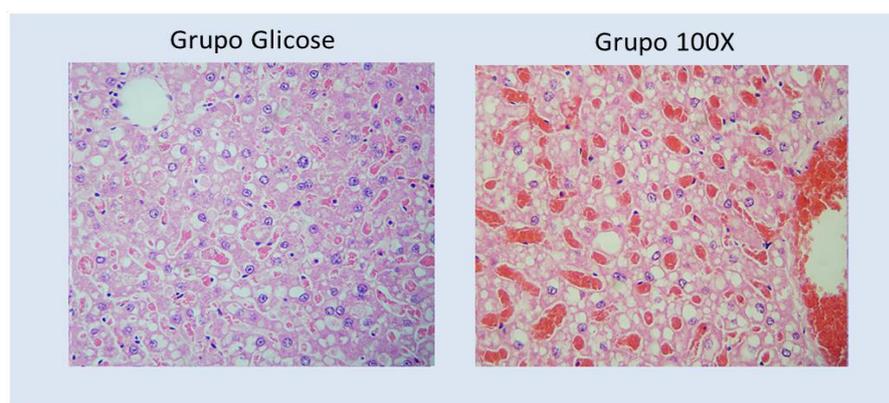


FIGURA 37: Lâminas dos fígados, espaço porta com infiltrado de linfócitos, congestão difusa moderada e degeneração vacuolar nos grupos glicose e de 100X.

A última lâmina de fígado apresenta um único animal do grupo de 100X com hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta no espaço porta e congestão difusa discreta, um achado comum (FIG.38).

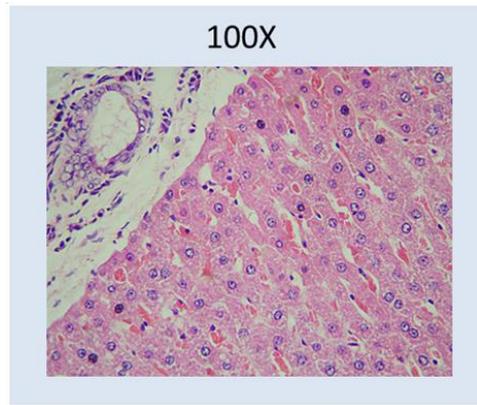


FIGURA 38: Lâmina do fígado, espaço porta com infiltrado de linfócitos, no grupo de 100X.

O achado de hepatite para todos os animais foi um dado curioso e sem qualquer ligação com o radiofármaco injetado. Para melhor avaliar os resultados foram realizados exames de sangue nos animais do biotério do IPEN. O exame apresentou resultado negativo para hepatite em todos os animais. (ANEXO C)

Esta hepatite pode ser um resultado falso-positivo, devido ao corte do tecido do fígado a ser fixado em lâmina ou artefato de fixação que pode sugerir alguma patologia mais grave.

A anisocariose discreta dos hepatócitos com vacuolização nuclear multifocal discreta é uma característica comum de células em regeneração por um processo inflamatório, o que não tem ligação direta com o ^{18}F -FDG, pois ratos do grupo controle também apresentaram.

Portanto, estatisticamente os achados nas lâminas de fígado não foram significativos para concluir alguma toxicidade relacionada com o ^{18}F -FDG.

Rins

Nas lâminas dos rins é possível observar os glomérulos e túbulos renais completamente normais.

A FIG. 39 demonstra rins de 5 animais do grupo controle, 4 do grupo glicose e 5 do grupo de 1000X com congestão difusa moderada, que é um achado comum e autólise discreta, que está relacionada com a decomposição do tecido do animal, sem relação nenhuma com o ^{18}F -FDG, devido ao grupo controle apresentar o mesmo dado.

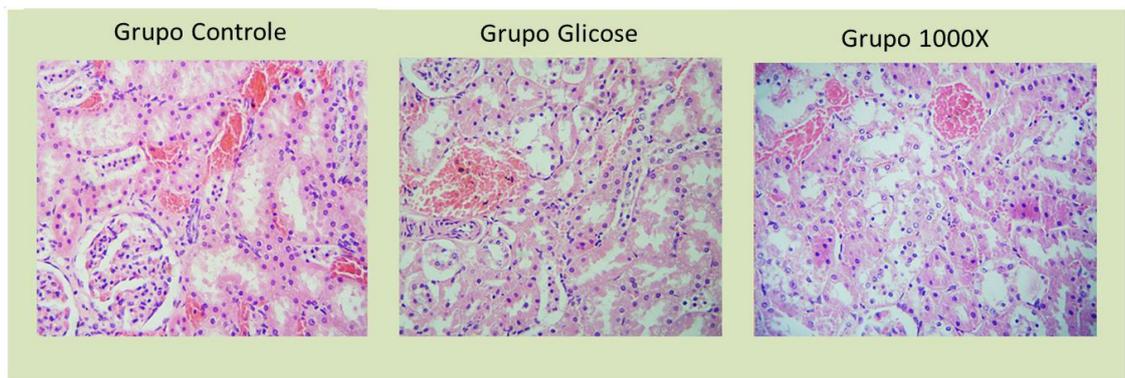


FIGURA 39: Lâminas dos rins, glomérulos, túbulos renais com discreta autólise e congestão difusa moderada, nos grupos controle, glicose e de 1000X.

A FIG. 40 apresenta as lâminas de um rim do rato do grupo controle, um do grupo glicose e outro do grupo de 100X, que como resultado mostrou uma congestão difusa moderada, um achado normal, autólise discreta, devido a decomposição do animal e raros focos de deposição de material basófilo laminar no interior de túbulos renais, associado a formação de cálculos mineralizados ou outro tipo de cálculo, que pode ser decorrente da composição proteica da dieta, sem ligação com o ^{18}F -FDG, pois os ratos controle também apresentaram o mesmo laudo.

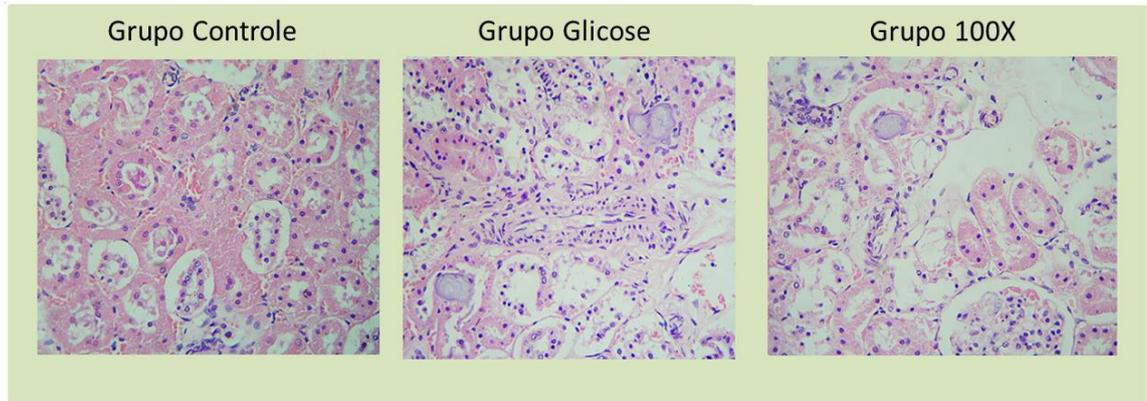


FIGURA 40: Lâminas dos rins, glomérulos, túbulos renais com discreta autólise e deposição de material basófilo, congestão difusa moderada, nos grupos controle, glicose e de 100X.

Já a FIG. 41 mostra um rim de um rato do grupo glicose e um rato do grupo de 100X com congestão difusa moderada, achado normal, autólise discreta devido a decomposição do rato, focos de descamação tubular discreta, achado comum e normal em rins, e raros focos de deposição de material basófilo laminar no interior de túbulos renais, associado a formação de cálculos mineralizados ou outro tipo de cálculo, que pode ser decorrente da composição proteica da dieta, sem ligação com o ^{18}F -FDG, pois os ratos controle também apresentaram este achado.

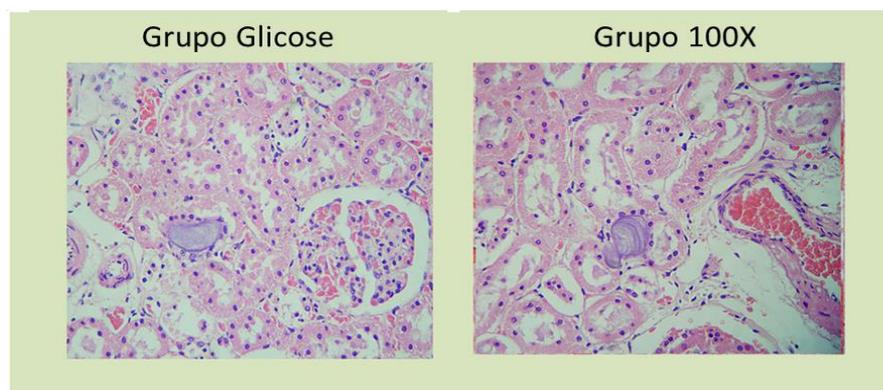


FIGURA 41: Lâminas dos rins, glomérulos, túbulos renais com autólise discreta, descamação discreta e deposição de material basófilo, congestão difusa moderada, nos grupos glicose e de 100X.

A FIG. 42 demonstra as lâminas de 2 animais um do grupo de 100X e outro do grupo de 1000X com congestão difusa moderada, achado comum e normal, autólise discreta, proveniente da decomposição do animal e focos de descamação tubular discreta, achado comum e normal.

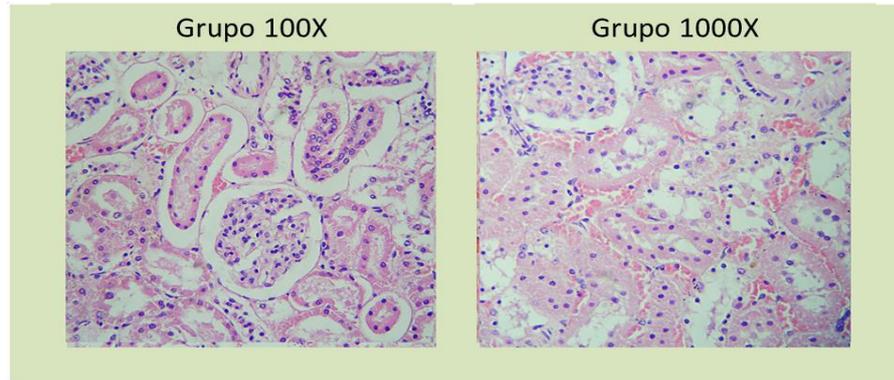


FIGURA 42: Lâminas dos rins, glomérulos, túbulos renais com autólise discreta e descamação discreta e congestão difusa moderada, nos grupos 100X e de 1000X.

Na FIG. 43 a lâmina de rim de um único animal do grupo de 100X apresentou congestão difusa moderada, achado normal, autólise discreta, devido a decomposição do animal e foco de dilatação de túbulos medulares repletos por material amorfo eosinófilico sugestivo de material proteínáceo, proveniente da composição proteica da dieta.

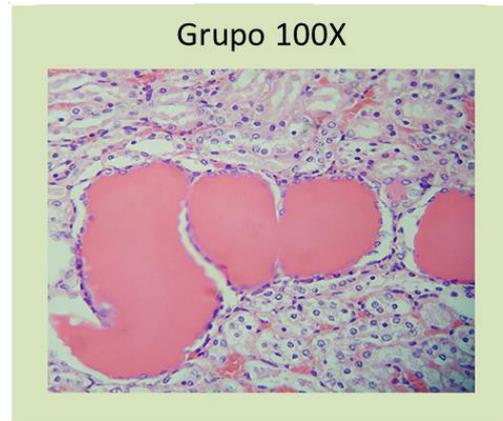


FIGURA 43: Lâmina do rim, glomérulos, túbulos renais com autólise discreta e dilatação dos túbulos medulares com material amorfo eosinófilo e congestão difusa moderada no grupo 100X.

Na última lâmina de rim, um único rato do grupo de 100X apresentou os achados de autólise discreta, devido a decomposição do animal e focos de descamação tubular discreta, achado comum e normal (FIG. 44).

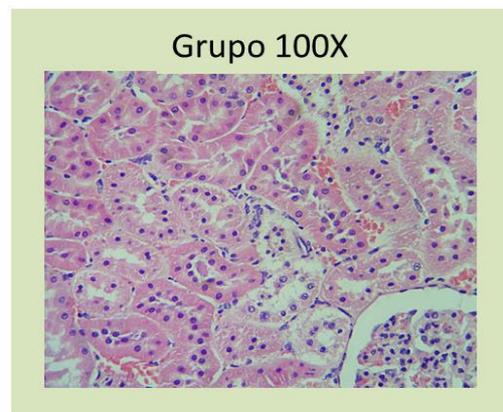


FIGURA 44: Lâmina do rim, glomérulos, túbulos renais com autólise discreta e descamação discreta nos grupos 100X.

Enfim, estatisticamente os achados nas lâminas de rins não foram significativos para concluir alguma toxicidade relacionada com o ^{18}F -FDG.

Bexiga

Nas lâminas de bexiga é possível visualizar seu epitélio estratificado e camadas musculares lisas, como mostra a FIG. 45. A FIG. 46 também demonstra bem esses achados, só que com focos de descamação epitelial discreta, o que é completamente normal, pelo fato da grande maioria dos animais apresentarem. Fora esse achado, não foi observado mais nada no epitélio da bexiga, o que significa que o ^{18}F -FDG não provocou nenhuma alteração.

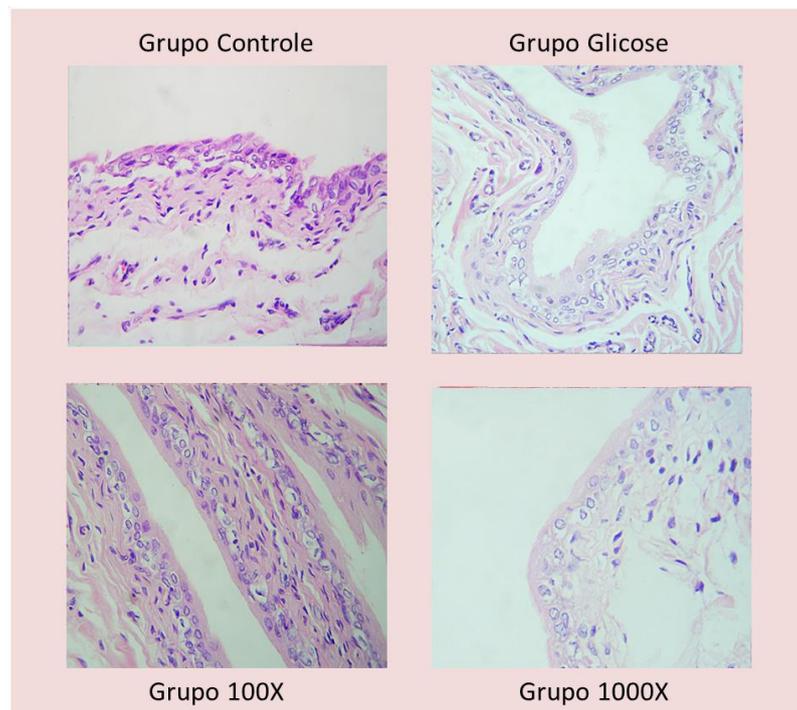


FIGURA 45: Lâminas da bexiga, epitélio estratificado e camadas musculares lisas, completamente dentro da normalidade nos grupos controle, glicose, 100X e 1000X.

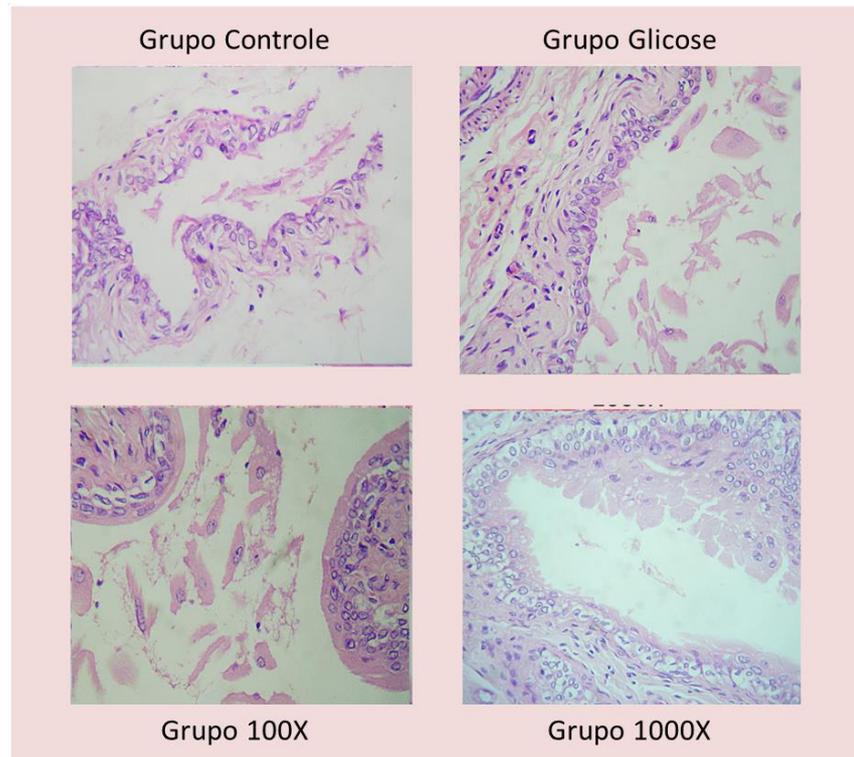


FIGURA 46: Lâminas da bexiga, epitélio estratificado com células descamando e camadas musculares lisas, nos grupos controle, glicose, 100X e 1000X.

Cérebro

Nas lâminas do cérebro é possível observar os neurônios, a matriz celular e vasos sanguíneos completamente dentro dos padrões (FIG. 47) O único achado evidenciado em 3 animais, um do grupo controle, um do grupo de 100X e outro do de 1000X foi a congestão difusa discreta, que representa um achado normal (FIG. 48). Mais uma vez as lâminas não representaram nenhuma alteração significativa, sem indicação de toxicidade do ^{18}F -FDG.

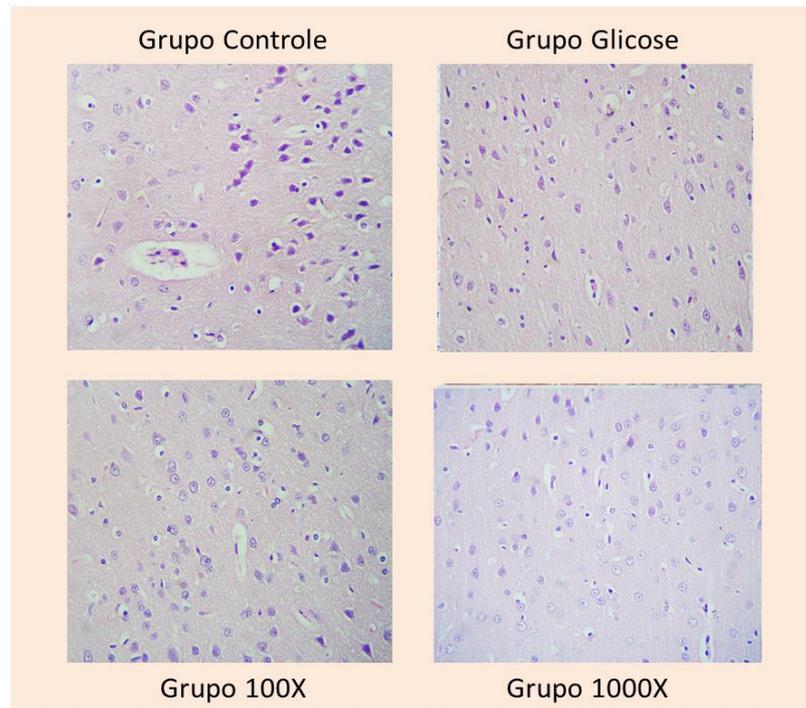


FIGURA 47: Lâminas dos cérebros, neurônios, matriz celular e vasos sanguíneos completamente normais, nos grupos controle, glicose, 100X e 1000X.

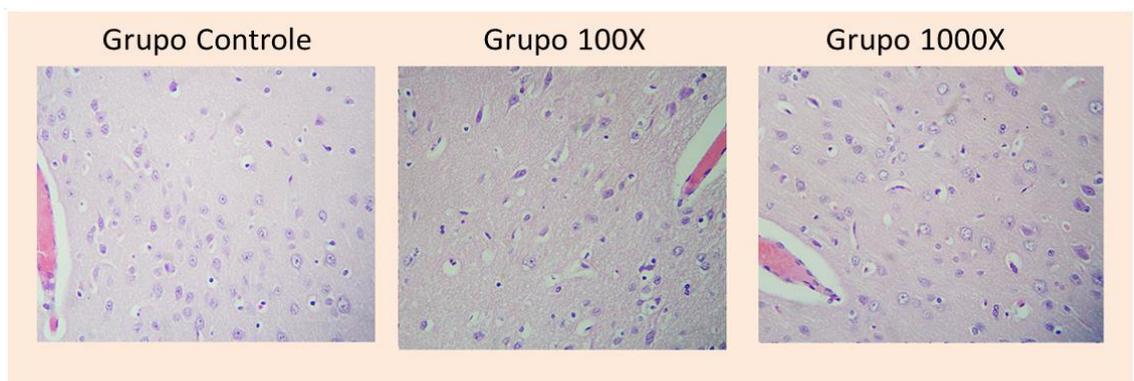


FIGURA 48: Lâminas dos cérebros, neurônios, matriz celular e vasos sanguíneos com uma congestão difusa discreta, nos grupos controle, 100X e 1000X.

Por fim, o laudo histopatológico não evidenciou nenhum achado microscópico que pudesse ter relação com a exposição do ^{18}F -FDG. Evidenciou achados da causa da morte, ou mesmo alterações devido a

dieta e a decomposição do animal, comprovando em conjunto com a necropsia a sua segurança.

4.3.6 Hemograma

A coleta de sangue dos animais foi realizada através da punção cardíaca, com os animais devidamente anestesiados. Foram retirados 500 μ L de sangue que foram coletados em microtubos com EDTA, para a realização do perfil hematológico: hemácias, hematócrito, hemoglobina, leucócitos e linfócitos.

Os valores normais e possíveis desvios do número de células e as taxas dos componentes não celulares do sangue são critérios importantes para avaliar a extensão da homeostase, as alterações resultantes de processos patológicos e da singularidade dos dados obtidos a partir de procedimentos experimentais ^[42].

A TAB. 15 representa o hemograma dos grupos de animais separados por fêmeas, machos e população e suas respectivas médias, acompanhadas do erro padrão das médias, correspondendo para um total de 24 amostras (6 para cada grupo). As médias foram comparadas com o grupo controle, pois como o biotério do IPEN não tem como controle valores de referência para hemograma. Em segundo plano essas médias também foram comparadas com valores de referência do biotério da Faculdade de Medicina da USP e também o biotério da Fundação Oswaldo Cruz, que são os biotérios que se aproximam mais das características do biotério do IPEN ^[43].

TABELA 15: Valores das médias e \pm erros padrão da média para os Hemogramas dos grupos controle, glicose, 100X e 1000X das fêmeas, machos e população da toxicidade subaguda em comparação com as referências 1 e 2.

Parâmetros	Média Fêmeas				Média Machos				Média População				Valores de Referência 1*	Valores Referência 2*
	Controle	Glicose	100X	1000X	Controle	Glicose	100X	1000X	Controle	Glicose	100X	1000X		
Hemácias ($10^6/\mu\text{L}$)	5.1 \pm 0.21	5.3 \pm 0.14	5.5 \pm 0.11	5.6 \pm 0.07	6.5 \pm 0.17	5.9 \pm 0.07	6.1 \pm 0.37	6.1 \pm 0.25	5.9 \pm 0.75	5.6 \pm 0.38	5.8 \pm 0.41	5.9 \pm 0.32	5.8	3,3 - 8,3
Hematócrito (%)	41.5 \pm 2.1	38.0 \pm 2.8	39.6 \pm 0.5	41.5 \pm 0.7	44.6 \pm 1.1	41.5 \pm 0.7	44.0 \pm 1.0	44.3 \pm 0.5	43.4 \pm 2.1	39.7 \pm 2.6	41.8 \pm 2.4	43.2 \pm 1.6	36.5	28 - 50
hemoglobina (g/dL)	14.1 \pm 0.9	12.7 \pm 0.5	13.2 \pm 0.2	14.0 \pm 0.4	15.1 \pm 0.2	13.6 \pm 0.3	13.9 \pm 0.9	15.3 \pm 0.5	14.7 \pm 0.7	13.1 \pm 0.6	13.5 \pm 0.7	14.8 \pm 0.8	14.5	11 - 18
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	6150 \pm 353.5	5850 \pm 1202	5433 \pm 2064	7450 \pm 919.2	10200 \pm 2389	5400 \pm 848	7166 \pm 550	8100 \pm 2343	8580 \pm 2794	5625 \pm 888	6300 \pm 1651	7840 \pm 1755	5.5	4 - 12
Linfócitos (%)	88.0 \pm 1.4	84.5 \pm 7.7	86.0 \pm 4.3	87.0 \pm 2.8	83.0 \pm 3.6	83.5 \pm 3.5	85.3 \pm 4.0	87.3 \pm 3.7	85.0 \pm 3.8	84.0 \pm 4.9	85.6 \pm 3.7	87.2 \pm 3.0	46.0	40 - 82

Referência 1 *: Biotério Faculdade de Medicina USP (2012) ^[45]

Referência 2 **: Fundação Oswaldo Cruz ^[43]

Quando os valores de hemácias, hematócrito, hemoglobina, leucócitos e linfócitos dos grupos experimentais glicose, 100X e 1000X foram comparados com o grupo controle, todos se apresentaram com valores similares e dentro do padrão do controle. Estatisticamente quando os valores foram comparados por Dunnett's, as médias das hemácias das fêmeas controle contra as médias das hemácias do grupo de 1000X foram significativas, as médias do hematócrito dos machos controle contra os machos da glicose foram significante também e por último as médias da hemoglobina da população controle contra a população da glicose foram significantes. Apesar de serem significantes, na prática não representam nada de incomum, pois as médias estão dentro ou próximas dos valores de referência do grupo controle.

Os valores de hemácias, hematócrito, hemoglobina, leucócitos e linfócitos dos grupos controle, glicose, 100X e 1000X quando comparados com os valores de referências da USP discorda na maioria das médias e em relação aos valores da Oswaldo Cruz, as médias se apresentam dentro da faixa em todos os valores hematológicos, com exceção dos linfócitos que estavam acima da faixa. Sugere-se que o aumento seja causado por uma infecção crônica ou pode ser que essas médias sejam valores padrão para ratos do biotério do IPEN. Isto mostra a importância de se estabelecer valores de referência próprio de cada biotério, pois cada um apresenta variações na sua dieta, manejo, estado sanitário, idade e outros interferentes^[42].

Por fim, não ficou totalmente claro o que os valores do perfil hematológico dos animais representam. Vale lembrar que o propósito do trabalho foi comparar os ratos expostos ao ¹⁸F-FDG, com os ratos não expostos, portanto não existe evidencia que o radiofármaco causou alterações hematológicas nos animais.

4.3.7 Função Hepática (ALT)

A alanina transaminase (ALT), também chamada transaminase glutâmica pirúvica sérica (SGPT ou TGP) ou alanina aminotransferase (ALAT), é uma enzima presente nos hepatócitos. Quando há lesão celular, a ALT atinge a corrente sanguínea e seus níveis séricos podem ser mensurados. A ALT aumenta drasticamente em lesões hepáticas agudas, como na hepatite viral. A disponibilidade dos valores de referência para ratos wistar é limitada, pois existem as variações de ambiente, dieta, manejo, estado sanitário, idade e outros interferentes ^[44].

A coleta de sangue dos animais foi realizada através da punção cardíaca, com os animais devidamente anestesiados. Foram retirados 500µL de sangue que foram coletados em microtubos com EDTA.

Na TAB. 16 estão descritas as médias dos valores de ALT para fêmeas e machos, como também valores de referência do Biotério da Faculdade de Medicina da USP ^[45] e de Boehm et al. ^[46].

TABELA 16: Valores das médias \pm erro padrão da média, para ALT dos grupos controle, glicose 100X e de 1000X, em comparação com o grupo controle, Referência 1 e Referência 2.

Exame bioquímico ALT	Controle	Glicose	100X	1000X	Ref. 1*	Ref. 2**
ALT (TGP) U/L 37°C Machos	48 \pm 4	46 \pm 4	34 \pm 3	47 \pm 3	20,20 \pm 2,92	35
ALT (TGP) U/L 37°C Fêmeas	70 \pm 7	83 \pm 40	57 \pm 4	51 \pm 4	22,20 \pm 7,88	52

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,05$: ANOVA).

Referência 1 *: Biotério Faculdade de Medicina USP (2012) ^[45]

Referência 2 **: Boehm et al. (2007) ^[46]

Quando as médias dos grupos experimentais foram comparadas com as médias do grupo controle, não houve diferença estatisticamente significativa tanto para fêmeas quanto para machos. Somente uma rata do grupo glicose apresentou um valor de ALT de 164U/L, valor alto comparado

ao restante dos ratos, apresentando o valor de erro padrão de 40 para o grupo. Valores altos para ALT sinalizam lesão no fígado e sua lâmina não demonstrou dados significativos. Por ser uma rata que recebeu só glicose não tem relação com o ^{18}F -FDG, provavelmente é uma lesão do próprio animal.

A variação dos resultados encontrados, quando comparados com os valores de referência 1, apresenta uma discrepância muito grande, mostrando-se superior em todos os grupos. Em comparação com a referência 2 os resultados foram um pouco mais próximo, mas mesmo assim superiores.

A análise comparativa com outras literaturas demonstrou claramente as variações entre instituições e neste caso a comparação com o grupo controle foi utilizada como referência, mais uma vez o ^{18}F -FDG não demonstrou toxicidade ao fígado.

4.3.8 Função renal (Creatinina)

A medida da concentração de creatinina no soro sanguíneo é um teste simples usado como o principal indicador da função renal. Um aumento dos níveis de creatinina no sangue é observado somente quando há um dano aos néfrons funcionantes ^[44].

A coleta de sangue dos animais foi realizada através da punção cardíaca, com os animais devidamente anestesiados. Foram retirados 500 μL de sangue que foram coletados em microtubos com EDTA.

A TAB. 17 apresenta as médias dos valores de creatinina para fêmeas e machos, como também valores de referência do Biotério da Faculdade de Medicina da USP ^[45] e de Santos et al. ^[47].

TABELA 17: Valores das médias \pm erro padrão da média, para Creatinina dos grupos controle, glicose 100X e de 1000X, em comparação com o grupo controle, Referência 1 e Referência 2.

Exame Creatinina	Controle	Glicose	100X	1000X	Ref. 1*	Ref. 2**
Creatinina mg/dL Machos	0,54 \pm 0,02	0,62 \pm 0,01	2,0 \pm 1,2	0,63 \pm 0,02	0,4 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2
Creatinina mg/dL Fêmeas	0,51 \pm 0,03	0,62 \pm 0,01	0,81 \pm 0,06	0,673 \pm 0,008	0,4 \pm 0,08	0,6 \pm 0,2

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,05$: ANOVA).

Referência 1 *: Biotério Faculdade de Medicina USP (2012).^[45]

Referência 2 **: Santos et al. (2010).^[47]

Os resultados dos grupos de machos experimentais quando comparados com o grupo controle não foram significativamente diferentes, exceto o grupo de 100X que a média apresentou bem superior devido a um único rato com creatinina com 4,58 mg/dL. Sugere-se um comprometimento renal, apesar da sua lâmina de rim não evidenciar nada, esse comprometimento pode ser próprio do animal sem relação com o ^{18}F -FDG.

Nas fêmeas experimentais os valores confrontados com as fêmeas do grupo controle, estatisticamente não foram significativos.

Em questão aos valores de referência, os resultados obtidos apresentam-se superiores quando comparados com a referência 1. Quando comparados com a referência 2, os valores resultantes são mais próximos. A comparação com essas literaturas evidencia a variação dos resultados entre as instituições.

O ^{18}F -FDG apresenta glicose em sua composição e é predominantemente eliminado via renal, mas a massa de glicose injetada é tão pequena que ficou evidente mais uma vez a sua segurança.

4.4 Ensaio de biodistribuição do ^{18}F -FDG e imagens no microPET

O foco deste estudo foi a biodistribuição do ^{18}F -FDG nos órgãos alvos e a quantidade de radioatividade recebida e captação do radiofármaco por estes órgãos. A dosimetria só seria possível, se todos os órgãos dos animais fossem analisados. Foi possível também realizar imagens com o novo equipamento de microPET no CR. O estudo destas imagens tem importância ilustrativa, sem a participação de CT (tomografia computadorizada), que ajudaria na delimitação mais precisa de cada órgão.

Quando injetado intravenosamente, o ^{18}F -FDG distribui-se rapidamente por todos os órgãos e é então excretado pela urina, diferentemente da glicose que é reabsorvida nos túbulos [48]. O ^{18}F -FDG apresenta rápida e maior captação pelo coração, cérebro, fígado e rins, devido ao fato de serem órgãos que possuem alta atividade da enzima hexoquinase, ou seja, maior metabolismo de glicose. O coração e o cérebro, por serem órgãos que tem a maior captação pelo radiofármaco são os órgãos que mais recebem radiação depois da bexiga [49]. A bexiga recebe a maior dose de radiação, pois a urina é a via de excreção deste radiofármaco e é a bexiga que concentra e armazena toda a radiação injetada que irá ser eliminada [48,49,50].

A TAB. 18 mostra a porcentagem calculada da atividade injetada que foi destinada para cada órgão no estudo de biodistribuição ou invasivo, no qual os ratos foram injetados com 18,5 MBq (500 μCi) de ^{18}F -FDG, e para o estudo de imagem, foi também calculado a porcentagem de dose de atividade injetada destinada a cada órgão, sendo injetado 7,9 MBq (214 μCi) de ^{18}F -FDG no rato. Após 30 minutos de captação nos ratos, os animais da biodistribuição foram sacrificados, seus órgãos alvos foram pesados e sua radiação do ^{18}F -FDG foi medida. No estudo de imagem também se esperou 30 minutos para realizar a imagem no microPET.

TABELA 18: Porcentagem da atividade injetada de ^{18}F -FDG, após 30 minutos, nos órgãos alvos na biodistribuição e na imagem.

	Invasivo (n=3)	Imagem (n=1)
Órgão	% atividade	% atividade
<i>Coração</i>	1,9% ± 0,2	0,39%
<i>Rins</i>	0,9% ± 0,1	0,09%
<i>Bexiga</i>	2,4% ± 1,1	3,68%
<i>Fígado</i>	0,9% ± 0,6	0,29%
<i>Cérebro</i>	1,5% ± 0,5	3,22%

Quando se compara as porcentagens obtidas nos dois estudos, a bexiga é sempre o órgão com maior captação, mesmo com os valores de atividade sendo um pouco diferentes. Na literatura a bexiga apresenta valor de porcentagem de atividade superior a todos os órgãos também, tanto em ratos quanto em humanos, como Stephen et al., Reivich et al., e Gallagher et.al.^[48,49,50]

Na biodistribuição o coração apresenta maior porcentagem de atividade injetada depois da bexiga, diferentemente do estudo de imagem, onde o segundo órgão que recebe mais atividade é o cérebro. Comparando esses resultados com dados na literatura, o segundo órgão que recebe maior atividade é o coração e em seguida vem o cérebro, como se apresenta na biodistribuição ^[48,49,50]. Os resultados da imagem tiveram uma discrepância pelo fato do microPET não apresentar em conjunto o CT, que ajuda na visualização e delimitação melhor dos órgãos, por isso os resultados acabaram discordando entre si. O CT também ajudaria em um cálculo mais preciso e mais próximo da literatura.

Na biodistribuição, os rins e o fígado apresentam-se com porcentagem de atividades próximas como na literatura também ^[48,49,50]. Na imagem o fígado aparece com mais porcentagem de atividade do que os rins, o que difere na literatura, no qual os rins apresentam um pouco mais de porcentagem de atividade do que o fígado, mais uma vez o estudo de imagem foi ilustrativo, para ser mais preciso o CT deveria agregar e melhorar os resultados.

A TAB. 19 demonstra a porcentagem calculada de dose de atividade injetada por grama do órgão, no caso da biodistribuição e no estudo da imagem é a porcentagem de dose de atividade injetada por cm^3 do órgão. Como equipamento de microPET não apresenta o CT, o que acaba dificultando o cálculo de porcentagem de atividade por grama de órgão, pois é preciso delinear os órgãos captados visualmente, o que já é difícil e o programa do equipamento calcula a porcentagem atividade pelo volume de cm^3 de órgão e não em gramas.

TABELA 19: Porcentagem da atividade injetada de ^{18}F -FDG por grama de cada órgão alvo na biodistribuição e porcentagem de atividade de ^{18}F -FDG em cm^3 de cada órgão alvo, no estudo de imagem, após 30 minutos.

	Invasivo (n=3)	Imagem (n=1)
Órgão	% Atividade/g	% atividade/cm^3
<i>Coração</i>	2,0% \pm 0,1	1,30%
<i>Rins</i>	0,8% \pm 0,1	2,35%
<i>Bexiga</i>	3,0% \pm 0,6	6,64%
<i>Fígado</i>	0,27% \pm 0,01	1,09%
<i>Cerebro</i>	1,1% \pm 0,1	2,48%

Mesmo o cálculo de porcentagem de atividade diferir em unidades nos dois estudos, a bexiga é o órgão que mais recebe radioatividade provinda do radiofármaco, tanto em gramas como em cm^3 . O coração novamente no estudo de biodistribuição fica em segundo lugar, na porcentagem de atividade por gramas e em seguida vem o cérebro. No estudo de imagem é o cérebro que fica com a segunda maior porcentagem de atividade em cm^3 e em seguida os rins, no qual difere completamente dos dados da literatura, onde o coração e o cérebro são os órgãos que mais recebem atividade depois da bexiga^[48,49,50].

Para a porcentagem de atividade nos órgãos como rins e fígado, a biodistribuição mostrou que os rins receberam maior porcentagem de atividade do que o fígado, como demonstrado na literatura^[48,49,50]. Já na imagem os órgãos com menos porcentagem de atividade recebida foram o

coração e o fígado, este resultado está diferente em comparação com a literatura^[48,49,50].

Para melhor comparação com este estudo a TAB. 20 mostra a dosimetria para humanos, utilizada em bulas atualmente. A bexiga é o órgão que mais recebe atividade, em seguida vem o coração, cérebro, rins e fígado, o que também foi observado nos estudos do presente trabalho ^[23].

TABELA 20: Dose absorvida por atividade administrada de ¹⁸F-FDG (mGy/MBq) em humanos ^[23].

ORGÃO	ADULTO (70 Kg)	15 ANOS	10 ANOS	5 ANOS	1 ANO
Bexiga	0,16	0,21	0,28	0,32	0,59
Coração	0,062	0,081	0,12	0,200	0,350
Cérebro	0,028	0,028	0,030	0,034	0,048
Rins	0,021	0,025	0,036	0,054	0,096
Útero	0,021	0,026	0,039	0,055	0,100
Ovários	0,015	0,020	0,030	0,044	0,082
Cólon Descendente	0,015	0,019	0,029	0,042	0,076
Cólon	0,013	0,017	0,027	0,040	0,074
Intestino Delgado	0,013	0,017	0,027	0,041	0,077
Cólon Ascendente	0,012	0,016	0,025	0,039	0,072
Pâncreas	0,012	0,016	0,025	0,040	0,076
Testículos	0,012	0,016	0,026	0,038	0,073
Supra-renais	0,012	0,015	0,024	0,038	0,072
Vesícula Biliar	0,012	0,015	0,023	0,035	0,066
Estômago	0,011	0,014	0,022	0,036	0,068
Ossos	0,011	0,014	0,022	0,035	0,066
Fígado	0,011	0,014	0,022	0,037	0,070
Músculos	0,011	0,014	0,021	0,034	0,065
Esôfago	0,011	0,015	0,022	0,035	0,068
Medula Vermelha	0,011	0,014	0,022	0,032	0,061
Baço	0,011	0,014	0,022	0,036	0,069
Timo	0,011	0,015	0,022	0,035	0,068
Tireóide	0,010	0,013	0,021	0,035	0,068
Pulmões	0,010	0,014	0,021	0,034	0,065
Mamas	0,0086	0,011	0,018	0,029	0,056
Pele	0,008	0,010	0,016	0,027	0,052
Outros Órgãos	0,011	0,014	0,022	0,034	0,063
Dose Efetiva (μ Sv/MBq)	0,019	0,025	0,036	0,050	0,095

Dados baseados na publicação da Comissão Internacional de Proteção Radiológica ICRP - 80 (1990)

Fonte: dados extraídos da Bula do radiofármaco ¹⁸F-FDG, IPEN, 2010, p. 02.

As FIG. 49, 50, 51 e 52 mostram as imagens realizadas com o equipamento microPET, após 30 minutos de injeção do ¹⁸F-FDG em um rato. As imagens passaram por um processamento de escala de cores, para visualização e captação do ¹⁸F-FDG em cada órgão. As imagens estão divididas em: 1º quadrante corte axial, 2º quadrante corte sagital e 3º quadrante corte coronal.

Na FIG. 49 foi possível observar uma maior captação pelo cérebro e bexiga. Na FIG. 50 a maior captação do radiofármaco se dá no cérebro, bexiga e tecido adiposo (gordura marrom). A FIG. 51 evidencia a alta captação do ^{18}F -FDG pelo cérebro, bexiga, coração no corte sagital, fígado e rins no corte coronal. E na última FIG. 52 foi possível observar a alta captação pelo cérebro, bexiga, e coração mais aparente no corte sagital.

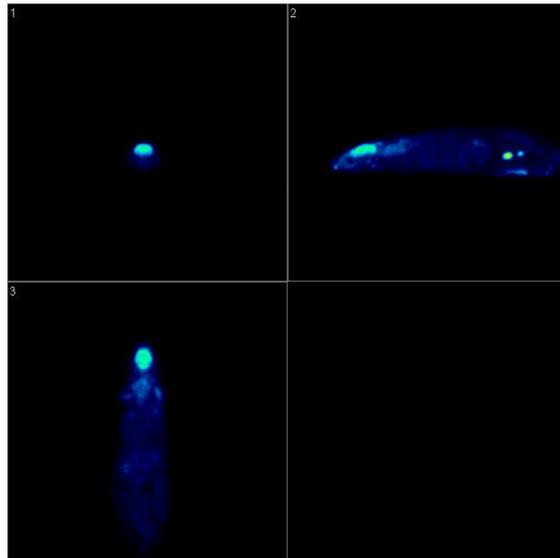


FIGURA 49: Imagem do rato após 30 minutos de injeção do ^{18}F -FDG. Captação no cérebro no corte axial, sagital e coronal.

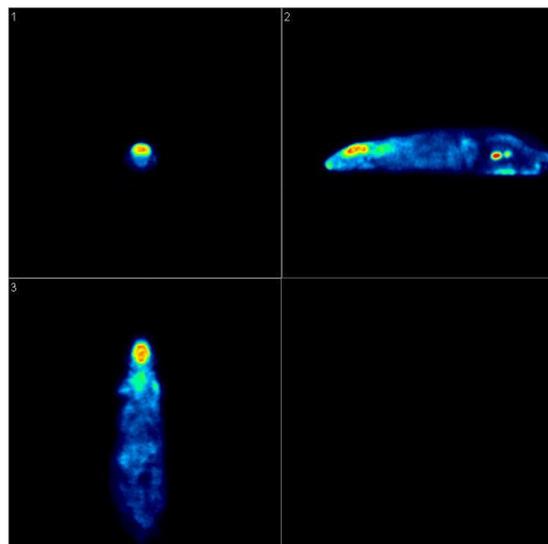


FIGURA 50: Imagem do rato após 30 minutos de injeção do ^{18}F -FDG. Captação no cérebro no corte axial, captação no cérebro, bexiga e tecido

adiposo no corte sagital e captação no cérebro e tecido adiposo no corte coronal.

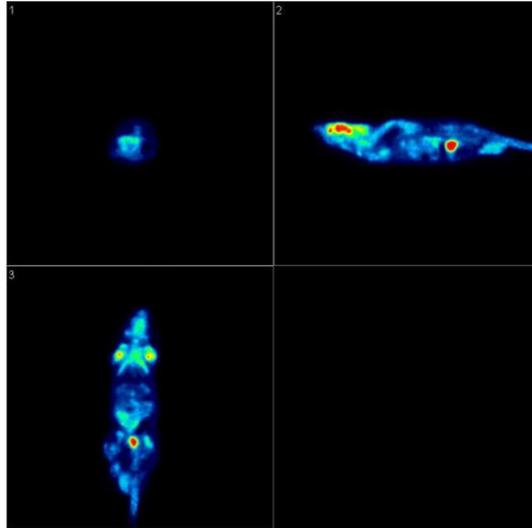


FIGURA 51: Imagem do rato após 30 minutos da injeção do ^{18}F -FDG. Captação no cérebro no corte axial, captação no cérebro, coração, tecido adiposo e bexiga no corte sagital e captação cérebro, tecido adiposo, fígado, rins e bexiga no corte coronal.

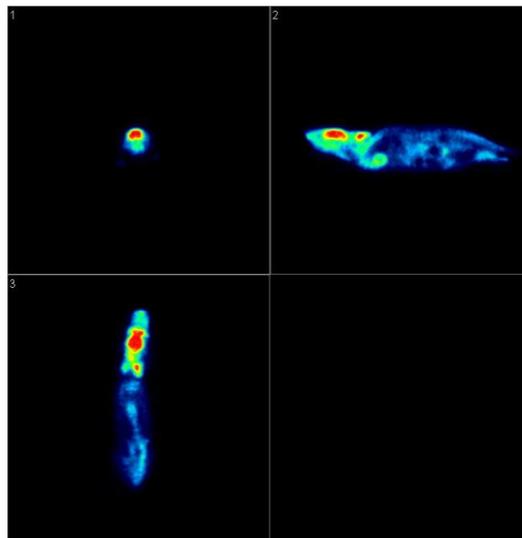


FIGURA 52: Imagem do rato após 30 minutos de injeção do ^{18}F -FDG. Captação no cérebro no corte axial, captação no cérebro, coração e tecido adiposo no corte sagital e captação cérebro e tecido adiposo no corte coronal.

4.5 Ensaios de fragmentação de DNA por análise de “cometas”

Conforme esperado, o ensaio cometa não evidenciou quantidade significativa de danos ao DNA de células sanguíneas pela administração do radiofármaco ^{18}F -FDG. Pode-se observar que as lâminas controle e as lâminas de 30 minutos (^{18}F -FDG) demonstram as mesmas características, predominância de células de classe 0 (FIG. 53).

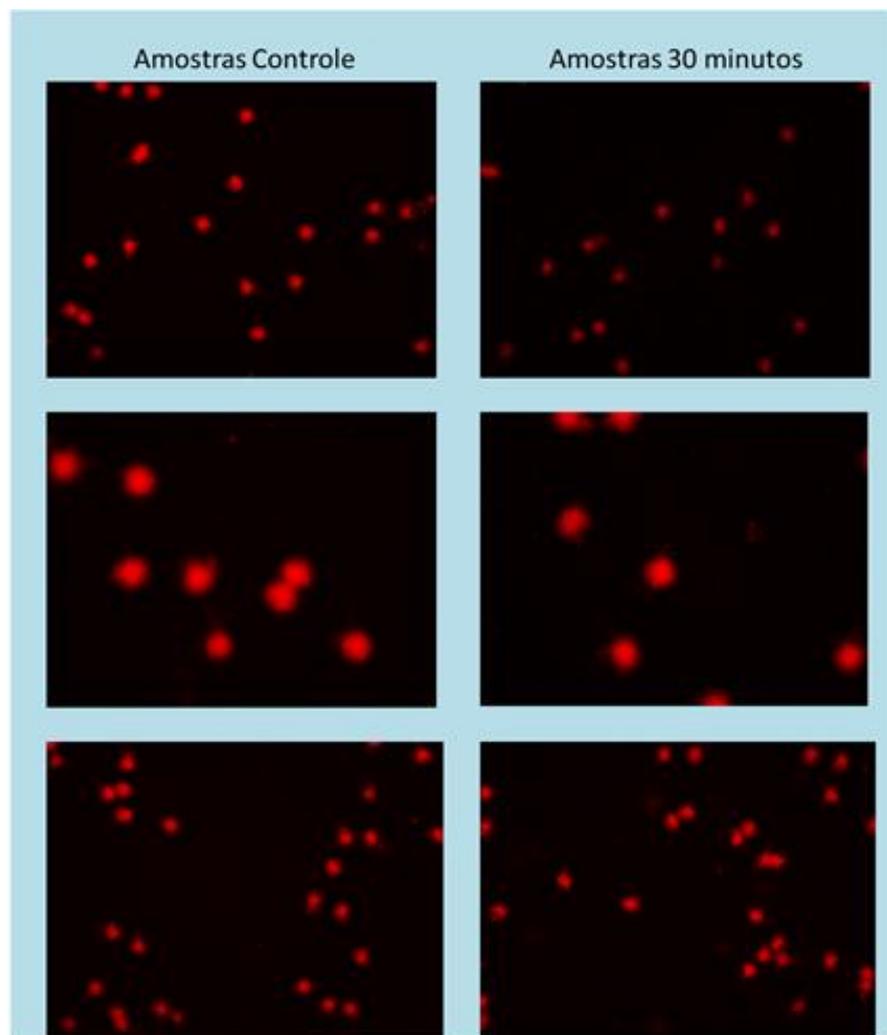


FIGURA 53: Microscopia de fluorescência de células sanguíneas pelo ensaio cometa. Lâminas do grupo controle e experimentais (após 30 minutos), predomínio de células classe 0, em todas as lâminas.

Estatisticamente, também foi confirmado que a quantidade de dano radioinduzido encontrado no cometa foi insignificante, ou seja, da dose injetada de 18,5 MBq (500 μ Ci), quase o triplo da dose padrão calculada para ratos 7,10MBq (192 μ Ci), a administração do ^{18}F -FDG não evidenciou danos em DNA em comparação com o controle (FIG.54).

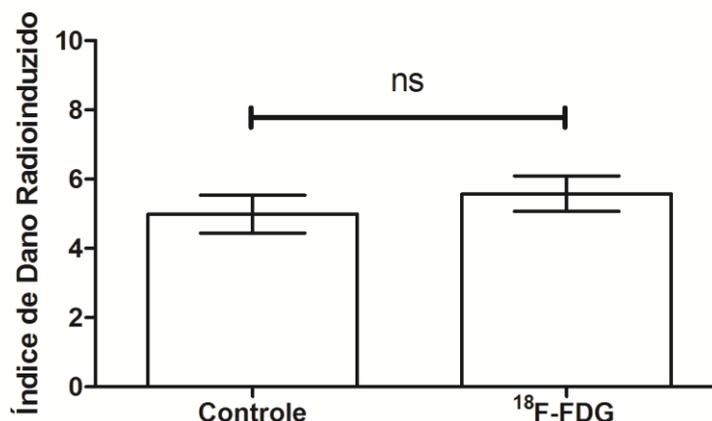


FIGURA 54: Os valores de índice radioinduzido encontrados nos animais pré e pós-exposição ao ^{18}F -FDG circulante, foram comparados por teste-t (*Student*), resultando em diferenças não significativas, considerando diferenças significativas aquelas cujo valor de p mostrou-se menor que 0,05.

4.6 Estudos de Toxicidade Reprodutiva

Os casais de ratos injetados intravenosamente com o ^{18}F -FDG na dose de 18,5MBq (500 μ Ci), foram colocados para cruzar e após 22 dias de gestação monitorada, foram obtidos os resultados da FIG. 55. Logo após o nascimento, os machos foram separados das fêmeas e seus filhotes.

Os ratos têm um ciclo estral de cinco dias, com uma gestação de apenas 22 dias ^[51], da qual nascem geralmente oito crias sem pelos, surdos e cegos ^[52]. Os recém-nascidos abrem os olhos aos quinze ou dezesseis dias, chegam a idade adulta com 2 meses e sua maturidade sexual observa-se aos três meses de idade ^[52,53].

Durante os primeiros dias pós-parto, assim como no desmame, os incômodos que a fêmea pode sofrer na manipulação excessiva ou alto nível de ruídos, assim como a carência de materiais para a construção do ninho, podem conduzir ao abandono ou destruição da ninhada ^[54].

A princípio este estudo iria avaliar até a 2ª geração dos animais, mas devido ao prazo do trabalho a toxicidade reprodutiva foi avaliada até a fase adulta da 1ª geração.

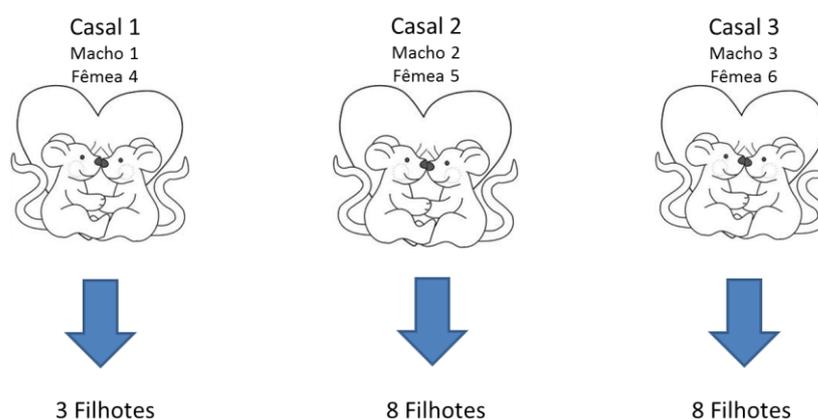


FIGURA 55: Casais de ratos formados e suas respectivas proles.

Casal 1

O nascimento dos 3 filhotes deste casal, foi o último nascimento entre os casais e sendo no dia 28/03/2013, após 3 dias do nascimento do casal 2 e 3.

Durante a gestação o casal se comportou normalmente e sem apresentar nenhum sinal clínico de toxicidade. A fêmea demonstrou ganho de peso na gestação, preparou o ninho para os filhotes e demonstrou-se estressada após o parto e sempre ao lado dos filhotes. Os 3 filhotes eram todos machos, aparentemente normais (FIG. 56). Geralmente a quantidade de filhotes por ninhada são 8, neste caso nasceram só 3 filhotes, no qual pode-se sugerir que houve canibalismo pela mãe, pelo fato dos filhotes não terem nascidos saudáveis ou natimortos e também stress por ruídos e manuseio ^[54]. Durante o final da gestação até o nascimento a sala do

biotério recebeu o pessoal de limpeza do ar condicionado, causando barulho e assim causando stress na rata.



FIGURA 56: Imagem dos 3 filhotes recém-nascidos no dia 28/03/2013 e sua mãe.

A amamentação durou 28 dias e após esse período os filhotes começaram a comer ração, normalmente.

Os 3 filhotes não apresentaram crescimento e nem desenvolvimento alterados, chegando a idade adulta, aos 2 meses, completamente saudáveis (FIG. 57 e 58).



FIGURA 57: Filhotes após 1 semana apresentam o aparecimento de pelos. Na segunda imagem 2 semanas após o nascimento, os filhotes já abriram os olhos e mostram as orelhas já formadas.



FIGURA 58: Primeira imagem representa os filhotes com 4 semanas de vida. E a segunda imagem apresenta os filhotes com 50 dias, completamente saudáveis.

Casal 2

Deste casal nasceram 8 filhotes no dia 25/03/2013, sendo 6 fêmeas e 2 machos, aparentemente normais (FIG. 59).

Na gestação o casal se comportou normalmente, não apresentou sinais clínicos de toxicidade. Novamente a fêmea ganhou peso, preparou ninho para os filhotes e após o parto ficou estressada e sempre ao lado dos filhotes. A fêmea demonstrava muito stress e atacava quando a caixa era trocada, comportamento característico normal da fêmea.



FIGURA 59: A primeira imagem mostra os 8 filhotes recém-nascidos no dia 25/03/2013. A segunda imagem os filhotes um dia depois do nascimento com a mãe.

A amamentação durou 28 dias e após esse período os filhotes começaram a comer ração, normalmente.

Os 8 filhotes não apresentaram crescimento e nem desenvolvimento alterados, chegando a idade adulta, aos 2 meses, completamente saudáveis (FIG. 60 e 61).

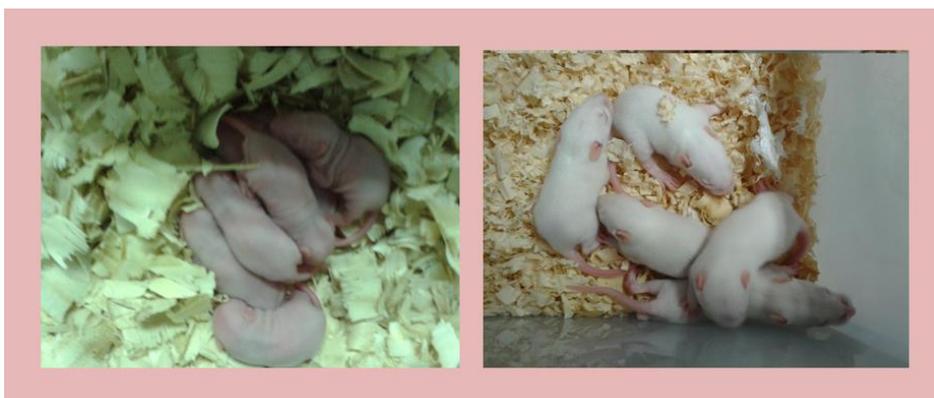


FIGURA 60: Os 8 filhotes após uma semana, já apresentavam o aparecimento de pelos. Na segunda imagem após 2 semanas as orelhas já formadas e com os olhos ainda fechados.



FIGURA 61: Na primeira imagem os filhotes na terceira semana de vida, já ativos com os olhos abertos. E na segunda imagem os filhotes com 50 dias, completamente normais.

Casal 3

Do casal 3 nasceram 8 filhotes no dia 25/03/2013, aparentemente vivos e normais (FIG.62). No dia seguinte ao nascimento, a fêmea tinha comido todos os filhotes. Pode-se sugerir que fêmea estava estressada, perdeu o controle e canibalizou a prole pelo fato de ser sua 1ª gestação^[54]. Também pode ser que sua gaiola estava em lugar que ocorreu muita movimentação e barulho, sendo que na semana do nascimento a sala do biotério recebeu o pessoal de limpeza do ar condicionado, causando o stress.



FIGURA 62: A duas imagens mostram os 8 filhotes nascidos no dia 25/03/2013, todos vivos com a mãe.

5. CONCLUSÕES

O estudo de toxicidade aguda não evidenciou nenhum efeito tóxico que relacione a administração das doses de 100 vezes e 1000 vezes a mais a dose padrão do radiofármaco ^{18}F -FDG em ratos sádios. Foram relatados achados necroscópicos e histopatológicos provenientes da causa da morte por CO_2 , mas nada que relacione e coloque a segurança do radiofármaco em dúvida. Na verdade substâncias muito tóxicas é que geralmente apresentam algum dado crítico neste estudo. Por isso a realização da toxicidade subaguda foi necessária, para uma exposição mais prolongada e com mais doses.

A toxicidade subaguda confirmou o laudo da toxicidade aguda. Mesmo os ratos sendo expostos a uma maior quantidade de doses de ^{18}F -FDG e por um período maior, novamente os resultados deste estudo como peso, consumo de água e ração, hemograma, função hepática e renal, necropsia e histopatológico não demonstraram evidências significativas que classifiquem o ^{18}F -FDG como uma substância tóxica. Mais uma vez assim confirmando sua segurança.

A biodistribuição do ^{18}F -FDG realizada em ratos mostrou-se similar aos dados da literatura, onde a bexiga tanto em animais quanto em humanos é o órgão que recebe maior quantidade de radiação proveniente ao radiofármaco. Nas imagens obtidas através do μPET existe ainda a necessidade de se acoplar a tomografia computadorizada (CT) para complementar e melhorar a análise das imagens em termos de anatomia.

O ensaio cometa realizado com células sanguíneas de ratos expostos a doses de ^{18}F -FDG um pouco maior que a dose padrão, demonstrou a total confiança na utilização do radiofármaco. Os danos em DNA

provocados pela a radiação do ^{18}F -FDG foram insignificantes, ou seja, o ^{18}F -FDG não induz danos em DNA.

O estudo de toxicidade reprodutiva ficou incompleto devido ao tempo, os cruzamentos foram até a fase adulta da 1ª geração, faltando o cruzamento para a 2ª geração. Mesmo assim os resultados obtidos não mostraram toxicidade do ^{18}F -FDG durante a gestação, nascimento, pós-nascimento e desenvolvimento dos filhotes até a fase adulta. Alguns dados ficaram incompletos, como por exemplo, algumas síndromes e doenças que só se manifestam na 2ª geração.

Portanto, a exposição em curto prazo ao radiofármaco ^{18}F -FDG não ofereceu riscos e nem danos a saúde dos animais, como também comprovou sua segurança clínica em doses acima do padrão, utilizada em diagnósticos.

Por fim, a metodologia empregada neste trabalho pode se transformar em protocolos de toxicidade para os radiofármacos produzidos no Brasil.

ANEXO A - Laudos Toxicidade Aguda

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



Nome: CONTROLE FÊMEA 100 Nº1 Espécie: RATTUS NORVEGICUS
Sexo: F Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: Entrega :INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME NECROSCÓPICO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas e presença de pequena quantidade de fezes firmes em esfíncter anal.

Achados Macroscópicos:

- Congestão pulmonar difusa grave;
- Congestão esplênica difusa grave;
- Estômago e intestino contendo grande quantidade de alimento pastoso amarelado;
- Congestão hepática difusa grave;
- Congestão renal difusa bilateral moderada;
- Congestão difusa branda em SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: *Fernanda Auciello Salvagni* - CRMV-SP 24878

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



Nome: CONTROLE FÊMEA 100 N°1 Espécie: RATTUS NORVEGICUS Idade...: ---
Sexo: F Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: Entrega :INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Material: Fragmentos de coração, fígado, rins, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coração: Congestão difusa discreta em miocárdio;
- Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar discreta dos hepatócitos em região centrolobular;
- Rins: Congestão difusa grave com presença de moderado conteúdo protéico róseo amorfo no interior de túbulos renais;
- Bexiga: Cistite focal linfocitária discreta superficial;
- SNC: Congestão difusa moderada.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: *Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878*

Fernanda A. Salvagni

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



Nome: CONTROLE FÊMEA 1000 N°3 Espécie: RATTUS NORVEGICUS
Sexo: F Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: --- Entrega: INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME NECROSCÓPICO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Achados Macroscópicos:

- Congestão pulmonar difusa grave;
- Congestão esplênica difusa grave;
- Estômago e intestino contendo grande quantidade de alimento pastoso amarelado;
- Congestão hepática difusa grave;
- Congestão renal difusa bilateral moderada;
- Congestão difusa branda em SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878

Fernanda A. Salvagni

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



260635

Nome: CONTROLE FÊMEA 1000 N°3 Espécie: RATTUS NORVEGICUS
Sexo: F Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: --- Entrega :INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Material: Fragmentos de coração, fígado, rins, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coração: Congestão difusa discreta em miocárdio;
- Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar moderada dos hepatócitos em região centrolobular;
- Rins: Congestão difusa grave com presença de moderado conteúdo protéico róseo amorfo no interior de túbulos renais;
- Bexiga: Descamação epitelial discreta;
- SNC: Congestão difusa moderada.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: *Fernanda Auciello Salvagni* - CRMV-SP 24878

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



260636

Nome: CONTROLE MACHO 100 N°4 Espécie: RATTUS NORVEGICUS Estado.: ---
Sexo: M Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: --- Entrega :INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME NECROSCÓPICO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Achados Macroscópicos:

- Congestão pulmonar difusa grave;
- Congestão esplênica difusa grave;
- Estômago e intestino contendo grande quantidade de alimento pastoso amarelado;
- Congestão hepática difusa grave;
- Congestão renal difusa bilateral moderada;
- Congestão difusa branda em SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878

Fernanda A. Salvagni

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
 CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
 Tel:(11) 3719-2297



Nome: CONTROLE MACHO 100 N°4 Espécie: RATTUS NORVEGICUS Idade..: ---
 Sexo: M Raça: --- Data: 11/07/2012
 Proprietário: --- Entrega :INTERNET
 Médico(a) veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Material: Fragmentos de coração, fígado, rins, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coração: Congestão difusa discreta em miocárdio;
- Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar moderada dos hepatócitos em região centrolobular;
- Rins: Congestão difusa grave com presença de moderado conteúdo protéico róseo amorfo no interior de túbulos renais;
- Bexiga: Descamação epitelial discreta;
- SNC: Congestão difusa moderada.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878

Fernanda A. Salvagni

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



260637

Nome: CONTROLE MACHO 1000 N°5 Espécie: RATTUS NORVEGICUS
Sexo: M Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: Entrega :INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME NECROSCÓPICO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Achados Macroscópicos:

- Congestão pulmonar difusa grave;
- Congestão esplênica difusa grave;
- Estômago e intestino contendo grande quantidade de alimento pastoso amarelado;
- Congestão hepática difusa grave;
- Congestão renal difusa bilateral moderada;
- Congestão difusa branda em SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: *Fernanda Auciello Salvagni* - CRMV-SP 24878

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



260637

Nome: CONTROLE MACHO 1000 Nº5 Espécie: RATTUS NORVEGICUS Idade: ---
Sexo: M Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: Entrega :INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Material: Fragmentos de coração, fígado, rins, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coração: Congestão difusa discreta em miocárdio;
- Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar moderada dos hepatócitos em região centrolobular e foco de infiltrado inflamatório misto (linfócitos e neutrófilos) discreto em região periportal;
- Rins: Congestão difusa grave com presença de moderado conteúdo protéico róseo amorfo no interior de túbulos renais;
- Bexiga: Discreta descamação epitelial;
- SNC: Congestão difusa moderada.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: *Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878*

Fernanda A. Salvagni

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



Nome: EXPERIMENTO FÊMEA 100 N°2 Espécie: RATTUS NORVEGICUS
Sexo: F Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: --- Entrega :INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME NECROSCÓPICO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Achados Macroscópicos:

- Congestão pulmonar difusa grave;
- Congestão esplênica difusa grave;
- Estômago e intestino contendo grande quantidade de alimento pastoso amarelado;
- Congestão hepática difusa grave;
- Congestão renal difusa bilateral moderada;
- Congestão difusa branda em SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
 CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
 Tel:(11) 3719-2297



Nome: EXPERIMENTO FÊMEA 100 Nº2 Espécie: RATTUS NORVEGICUS
 Sexo: F Raça: --- Data: 11/07/2012
 Proprietário: --- Entrega :INTERNET
 Médico(a) veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Material: Fragmentos de coração, fígado, rins, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coração: Congestão difusa discreta em miocárdio;
- Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar moderada dos hepatócitos em região centrolobular e foco de infiltrado neutrofílico discreto centrolobular;
- Rins: Congestão difusa grave com presença de moderado conteúdo protéico róseo amorfo no interior de túbulos renais e focos de autólise tubular;
- Bexiga: Discreta descamação epitelial;
- SNC: Congestão difusa moderada.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: *Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878*

Fernanda A. Salvagni

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



260639

Nome: EXPERIMENTO MACHO 100 Nº5 Espécie: RATTUS NORVEGICUS
Sexo: M Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: --- Entrega: INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a): ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME NECROSCÓPICO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Achados Macroscópicos:

- Congestão pulmonar difusa grave;
- Congestão esplênica difusa grave;
- Estômago e intestino contendo grande quantidade de alimento pastoso amarelado;
- Congestão hepática difusa grave;
- Congestão renal difusa bilateral moderada;
- Congestão difusa branda em SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: *Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878*

Fernanda A. Salvagni

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
 CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
 Tel:(11) 3719-2297



Nome: EXPERIMENTO MACHO 100 N°5 Espécie: RATTUS NORVEGICUS
 Sexo: M Raça: --- Data: 11/07/2012
 Proprietário: --- Entrega: INTERNET
 Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Material: Fragmentos de coração, fígado, rins, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coração: Congestão difusa discreta em miocárdio;
- Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar moderada dos hepatócitos em região centrolobular;
- Rins: Congestão difusa grave com presença de moderado conteúdo protéico róseo amorfo no interior de túbulos renais e focos de autólise tubular;
- Bexiga: Discreta descamação epitelial;
- SNC: Congestão difusa moderada.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878

Fernanda A. Salvagni

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



260640

Nome: EXPERIMENTO FÊMEA 1000 N°1 Espécie: RATTUS NORVEGICUS
Sexo: F Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: --- Entrega :INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME NECROSCÓPICO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Achados Macroscópicos:

- Congestão pulmonar difusa grave;
- Congestão esplênica difusa grave;
- Estômago e intestino contendo grande quantidade de alimento pastoso amarelado;
- Congestão hepática difusa grave;
- Congestão renal difusa bilateral moderada;
- Congestão difusa branda em SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
 CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
 Tel:(11) 3719-2297



Nome: EXPERIMENTO FÊMEA 1000 Nº1 Espécie: RATTUS NORVEGICUS
 Sexo: F Raça: --- Data: 11/07/2012
 Proprietário: --- Entrega :INTERNET
 Médico(a) Veterinário(a): Dr(a):ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Material: Fragmentos de coração, fígado, rins, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coração: Congestão difusa discreta em miocárdio;
- Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar moderada dos hepatócitos em região centrolobular e foco de infiltrado neutrofílico discreto centrolobular;
- Rins: Congestão difusa grave com presença de moderado conteúdo protéico róseo amorfo no interior de túbulos renais e focos de autólise tubular;
- Bexiga: Discreta descamação epitelial;
- SNC: Congestão difusa moderada.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: *Fernanda Auciello Salvagni* - CRMV-SP 24878

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



260641

Nome: EXPERIMENTO MACHO 1000 Nº5 Espécie: ROTTUS NORVEGICUS Idade: ---
Sexo: M Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: --- Entrega: INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a): ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME NECROSCÓPICO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas e presença de pequena quantidade de fezes firmes em esfíncter anal.

Achados Macroscópicos:

- Congestão pulmonar difusa discreta;
- Congestão esplênica difusa grave;
- Estômago e intestino contendo grande quantidade de alimento pastoso amarelado;
- Congestão hepática difusa grave;
- Congestão renal difusa bilateral moderada;
- Congestão difusa branda em SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878

Fernanda A. Salvagni

LAB&VET - Diagnóstico e Consultoria Veterinária

Av. Escola Politécnica, 4445
CEP: 05.350-000 São Paulo - SP

www.labvet.com.br
Tel:(11) 3719-2297



Nome: EXPERIMENTO MACHO 1000 Nº5 Espécie: ROTTUS NORVEGICUS
Sexo: M Raça: --- Data: 11/07/2012
Proprietário: --- Entrega: INTERNET
Médico(a) Veterinário(a): Dr(a): ROSANA MARIA DE OLIVEIRA

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Material: Fragmentos de coração, fígado, rins, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coração: Congestão difusa discreta em miocárdio;
- Fígado: Congestão difusa grave com degeneração vacuolar moderada dos hepatócitos em região centrolobular e foco de infiltrado neutrofilico discreto centrolobular;
- Rins: Congestão difusa grave com presença de moderado conteúdo protéico róseo amorfo no interior de túbulos renais e focos de autólise tubular;
- Bexiga: Discreta descamação epitelial;
- SNC: Congestão difusa moderada.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Auciello Salvagni - CRMV-SP 24878

Fernanda A. Salvagni

ANEXO B - Laudos Toxicidade Subaguda

	
RE: 27068 Paciente: CONTROLE FEMEA 23/12/13 12:28:00 Proprietario: --- Medico: --- Hospital: NUN PAULA KONRITA	
Data: 18/12/2013 Idade: ---	
EXAME DE FEZES	VALORES DE REFERENCIA
ESTRUCOGRAMA: Reatividade: 5,73 S/D/E/AL Hemoglobina: 10,5 g/dL VCM: 73,47 µ³ CHCM: 33,75 % PROTEINAS TOTAIS: 6,8 g/dL	ATENÇÃO: VALORES DE REFERENCIA NO DISTINTO PARA ESTA ESPÉCIE ANIMAL.
LEUCOGRAMA: Leucócitos: 2000 /uL Neutrófilos: 0 % Bastonetes: 0 % Linfócitos: 0 41,3 % Monócitos: 0 7,3 % Eosinófilos: 4 2,6 % Basófilos: 0	
PLAQUETAS: --- COMENTÁRIOS: MAN. SIGNO DE NORA	
ANESTESIA: ANESTE TOTAL EM ESTA MICROSCÓPIO	
Conferido e Análise Eletrolítica pelo Responsável: Luciana Ingrid - CRM-SP 12621	
RESULTADO DE EXAME BIODINÂMICO-CHAVE VALORES DE REFERENCIA Condutividade: 0,17 eq/dL VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVEL PARA ESTA ESPÉCIE Osborn-Reynolds: PLASMA COM ESTA	
VALORES:	

Conferido e Análise Eletrolítica pelo Responsável: Kátia Ricardi - CRM-SP 24296 RESULTADO DE EXAME BIODINÂMICO-ALT VALORES DE REFERENCIA ALT (TPN): 58 U/L 37°C DISPONÍVEL PARA ESTA ESPÉCIE Glicose: PLASMA COM ESTA Nitrito: Clotado ocluzado.	Conferido e Análise Eletrolítica pelo Responsável: Kátia Ricardi - CRM-SP 24296 RESULTADO DE EXAME MICROSCÓPIO Exame Externo: Recolido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.
Exame Macroscópico: - Inchaço grave; - Focos de aderência de coágulo amarelado no coração; - Congestão e hiperemia pulmonares difusas graves; - Aorta estenocistal repleta por sangue e contendo uma quantidade por água gástrica de conteúdo semelhante ao conteúdo observado em cães; - Bexiga pouco repleta por urina amarela pálida; - Contato com oitavo parâmetro moderado; - Coração com aspecto normal, moderado e hiperplasia moderada da musculatura cardíaca; - Baço normal, com aspecto normal; - Fígado normal, incluindo baço, pâncreas, fígado, útero, ovários, adrenais e SNC.	Conferido e Análise Eletrolítica pelo Responsável: Fernanda Lucidella Salvoani - CRM-SP 24878 RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO Material: Fígado, fígado, fêm, esôfago e SNC. Histopatológico: - Coração: N.D.M.; - Fígado: hepatite linfoplasmocitária periférica multifocal discreta; - Rins: Congestão difusa moderada e acútilas discretas; - Bexiga: focola de descamação epitelial discreta; - SNC: N.D.M..
Conferido e Análise Eletrolítica pelo Responsável: Fernanda Lucidella Salvoani - CRM-SP 24878	



RE: 27355 Paciente: CONTROLE FEMEA
 21/03/2012

Proprietário: ---
 Convênio: PAVI
 Médico: ANA PAULA MARTIN

Data: 18/12/2012
 Idade:

EXAME CANCELADO
 EXAME SOLICITADO: REPERNAVA
 CONFERIDO E ASSINADO ELETRONICAMENTE PELA REPERNAVA EM EPRA
 MOTIVO DO CANCELAMENTO: ANOTAÇÃO CONCLUIDA
 COMENTÁRIO AO SOLICITANTE: SIM (DR. DANIELE)
 POR: DR. DANIELA
 DR.: ---

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Landeira - CRM-SP 12621
RESULTADO DE EXAME BIOQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERÊNCIA
 Creatinina: 0,44 mg/dl VALORES DE REFERÊNCIA SAO
 OBSERVAÇÕES: FAIXA COM EDA DISPONÍVEL PARA ESTA ESPÉCIE

MéTODO:
 Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricciardi - CRM-SP 24286
RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERÊNCIA
 ALT (TDP): 68 U/L 37°C VALORES DE REFERÊNCIA SAO
 OBSERVAÇÕES: FAIXA COM EDA DISPONÍVEL PARA ESTA ESPÉCIE

Método:
 Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricciardi - CRM-SP 24286
RESULTADO DE EXAME HEMORRÓDICO
 Exame Exterior: Paciente animal em bom estado nutricional, apresentado mucosas
 pálidas.

- Exame Parasitológico:
- Reoccorar grave;
 - Focosa de aderência de colúmbis amarelado em cólon;
 - Apatosporo e imaturos de parasitas diversos;
 - Presença de moderada quantidade de alburno parcialmente quiliado em 1/2 gástrico;
 - Boxia pouco repleta por urina amarela palha;
 - Demais órgãos e tecidos dentro dos padrões morfológicos macroscópicos da normalidade, incluindo fígado, pâncreas, intestino, rins e SNC.
- Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Patrícia Lucélia Salvagni - CRM-SP 24878

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO
 Material: Fragmentos de cólon, fígado, rim, bexiga e SNC.

- Histopatológico:
- Cólon: M.D.N.;
 - Fígado: hepatite crônica multifocal multifocal discreta;
 - Rim: congestão difusa moderada e atrofia discreta;
 - Bexiga: fona de deturcação epitelial moderada;
 - SNC: M.D.N.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Patrícia Lucélia Salvagni - CRM-SP 24878





RE: 272055 Peixe: CONTROLE 3 FEMEA
24/07/13 12:20

Proprietário: ---
Convênio: PATRI
Médico: JANA SYLVIA JANETTA

Data: 18/12/2012
Idade: ---

HEMOGRAMA SÉRICO

VALORES DE REFERÊNCIA

EXTENSÃO:

ATENÇÃO: VALORES DE REFERÊNCIA

Hematócrito: 43 11,0/14,0 NMO DISPOSITIVO PARA ESTA

Hemoglobina: 14,8 g/dL NMO DISPOSITIVO PARA ESTA

HbA1c: 86,00 % ESPECIE ANIMAL.

CRP: 34,42 g/L

PROTEÍNAS TOTAIS: 6,0 g/dL

ALBÚMINA: 4,40 g/dL

Ureia: 0,0 mg/dL

Creatinina: 0,0 mg/dL

Amilase: 87 U/L

Lipase: 0 U/L

Amilase: 0 U/L

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Riccardi - CRM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERÊNCIA

ALT (TGP): 44 U/L 37°C DISPOSITIVOS PARA ESTA ESPECIE

Observações: PLASMA COM EDTA

Método: Clotado rotatório.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Riccardi - CRM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME MICROSCÓPICO

Exame Microscópico: animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas

palidas.

Exame Microscópico:

- Hemicórnea grave;

- Foco de aderência de coágulo sanguíneo em cecocolo;

- Alterações na mucosa gástrica e duodenal, com áreas de necrose e descolamento da mucosa;

- Presença de grande quantidade de alimento parcialmente digerido em luz gástrica;

- Ductos pancreáticos dilatados;

- Ductos biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;

- Ductos pancreáticos e biliares dilatados com presença de conteúdo alimentar;



Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvoani - CRM-SP 24878

RESULTADO DE EXAME MICROSCÓPICO

Exame Microscópico: fragmentos de coágulo, sangue, fígado, rim, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coágulo: N.O.N.I;

- Fígado: Hepatite linfoplasmocitária periportal multifocal discreta e arboriforme discreta com hepatócitos com vacuolização nuclear multifocal discreta. Não

observadas alterações na arquitetura lobulillar e arquitetura dos sinusoides.

- Rim: Congestão difusa moderada a moderada discreta;

- Bexiga: Focos de detritamento epitelial discreto;

- SNC: N.O.N.I.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Riccardi - CRM-SP 24296



RE 272854 Paciente CONTROL 4 MACIO
28/10/13 12:30:00

Proprietário: ---
Nome do paciente: ANA MARIA MOREIRA
Medico: ANA MARIA MOREIRA
Data: 10/12/2012
Idade: ---

INFORMACAO SIVETRES

VALORES DE REFERENCIA

EXAMENADO:	VALOR	UNIDADE	REFERENCIA
Hemácias:	6,6	10 ⁶ /μL	NÃO DISPONÍVEL PARA ESTA
Hemoglobina:	15,4	g/dL	ESPECIE ANIMAL.
HCT:	69,70	%	
CMCH:	33,48	μm	
PLAQUETAS TOTAIS:	6,8	q/dL	

LEUCOCITOS:
Neutrófilos: 12300 /μL
Linfócitos: 0
Monócitos: 0
Eosinófilos: 0
Basófilos: 0

PLAQUETAS:
NADA COMO DE NOTA
NADA COMO DE NOTA

AMOSTRA:
SANGUE TOTAL EM EDTA

Confirido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Langrafe - CRM-SP 12621

RESUMO DE EXAME BIOTICO-CHEM VALORES DE REFERENCIA

Creatinina: 0,30 mg/dL VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVELS PARA ESTA SPECIE
Observações: PLASMA COM EDTA

Método:

Confirido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Maria Ricardo - CRM-SP 24256

RESUMO DE EXAME BIOTICO-CHEM VALORES DE REFERENCIA
ALT (U/L): 42 U/L 37°C VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVELS PARA ESTA SPECIE

Observações: PLASMA COM EDTA

Método: Clotério rotatório.

Confirido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Maria Ricardo - CRM-SP 24256

RESUMO DE EXAME NEFRICOLOGICO
Exame Externo: Recolho animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas
pálidas.

Exame Macroscópico:

- Hemostase grave;
- Foco de aderência de coágulo adquirido em contato;
- Coração e hemostase pulmonares difusos graves;
- Presença de resíduos sólidos de alimento parcialmente digeridos em luz gástrica;
- Bolça pequena repleta por urina amarelada pálida;
- Bolça e cegos e fezes dentro dos pontos morfologicos macroscópicos de normalidade, incluindo bexiga, pâncreas, fígado, útero, ovário, adreais e SNC.

Confirido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvoani - CRM-SP 24878

RESUMO DE EXAME ESTROLOGICO
Método: Temperatura de corpo, fígado, rim, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coração: N.D.M.
- Fígado: Infarcte infoplasmoctária periferai multifocal discreta e arterioleses
- Rim: Coração difusa hiperplasia mucosa multifocal discreta. Não
- Rm: Coração difusa discreta e arterioles discretas.
- Bolça: Focos de descolamento epitelial discreto.
- SNC: N.D.M.

Confirido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvoani - CRM-SP 24878





RE 27263 Prêmio CONTROLE SMOCHO
23/09/13 15:28

Proprietário: ---
Convênio: PACTI
Município: AMM PAIVA MOURTA

Data: 18/12/2012
Idade:

HEMOGRAMA SIVETRENA

HEMOGRAMA SIVETRENA	VALORES DE REFERENCIA	ATENÇÃO: VALORES DE REFERENCIA
Eritrócitos:	6,6	110 G/L
Hemácritico:	44	1
Hemoglobina:	14,97	g/dL
Hematócrito:	31,86	%
PLAQUETAS TOTAIS:	6,6	G/DL
LEUCOCITOS:	19700	/UL
Neutrófilos:	0	%
Bastonetes:	0	%
Linfócitos:	11	1177
Monócitos:	87	9309
Eosinófilos:	1	107
Bastonetes:	0	%

PLAQUETAS: NADA DIGNO DE NOTA
COMENTÁRIOS: NADA DIGNO DE NOTA

ANEXO: SANGRE TOTAL EM ESTA PLACINA HEMOLISADO (+)---

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Langsdorf - CRMV-SP 14621

RESULTADO DE EXAME HEMODINÂMICO-QUÍMICO

Condições: 0,37 mg/dL VALORES DE REFERENCIA NAO
Observações: PLACINA HEMOLISADO (+)---
PLACINA COM ESTRA
Método: PLACINA COM ESTRA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Ricciardi - CRMV-SP 24286

RESULTADO DE EXAME HEMODINÂMICO-QUÍMICO

ALT (UREA): 35 U/L 37°C VALORES DE REFERENCIA NAO
DISPONÍVEL PARA ESTA ESPÉCIE

Observações: PLACINA HEMOLISADO (+)---
Método: PLACINA COM ESTRA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Ricciardi - CRMV-SP 24286

RESULTADO DE EXAME NEUROLOGICO

Exame Extremo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas palidas e pequena quantidade de fezes firmes em porcelano.

Exame Neuropsíquico:

- Hemi-clausa grave;
- Foco de adormecimento de membros anteriores em membros posteriores em membros anteriores;
- Algas intestinais repetidas por lágrima e moderadamente distendidas por gás;
- Focos de entorpecimento discreto a moderado em jejuno;
- Presença de moderada quantidade de alimento parcialmente quimificado em íleo;
- Conhecido hemático moderado e sinais de esteatorréia;
- Bexiga pouco repleta por urina amarelada palha;
- Comensal ronal glúten bilateral simétrico;
- Comensal ronal glúten bilateral simétrico e moderado em porções mesométricas da normalidade, incluindo bazo, pâncreas, testículo, adrenalina e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Lucatello Salvagni - CRMV-SP 24878

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Materiais: Fragmentos de coração, fígado, rim, testis e SNC.

Histopatológicos:

- Coração: N.A.N.I.
- Fígado: Impacto linfoplasmocitário periporal multifocal discreto, comensal difusa moderada, degeneração vacuolar hepatocelular contíguo a áreas dos hepatócitos e entorpecimento discreto com hepatócitos com vacuolização nuclear moderada a severa.
- Rim: Conhecido difusa discreta, atóxico discreto e raras focos de deposição de material basofílico lamelar no interstício de túbulos renais;
- Bexiga: N.D.N.I.
- SNC: N.A.N.I.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Lucatello Salvagni - CRMV-SP 24878





RE: 27297 Padem: CONTROLE EMACHO

23/08/13 12:22:00

Proprietário: ---
Medico: ANA PAULA MOREIRA

Data: 18/12/2013

Cidade: ---

IMPRESSORA SILVERMIA

VALORES DE REFERENCIA

ENTRORRINA: ATENDIDA VALORES DE REFERENCIA

Hemácias: 4,3 X10⁶/µL

Hemoglobina: 13,0 g/dL

Hct: 69,84 %

MCV: 34,09 fL

MCN: 6,2 g/dL

RDW: 7,600 %

RDW-CV: 0

RDW-S: 0

RDW-SD: 0

RDW-AP: 0

RDW-FL: 0

RDW-ML: 0

RDW-PL: 0

RDW-RL: 0

RDW-RR: 0

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsavel: Kátia Ricardo - CRM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME BIOTECNICO-ALT VALORES DE REFERENCIA

ALT (CO): 48 U/L 37°C DISPONIVEIS PARA ESTA SPECIE

Observações: PLASMA COM ESTRA

Medico: CLAUDIO OCELINDO

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsavel: Kátia Ricardo - CRM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME NEFROSCOPICO

Exame Externo: Resíduo animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas palidas.

Exame Macroscópico:

- Hecesaz grava;
- Foco de aderência de coágulo azulado em conexão;
- Coração e hemorragia pulmonar difusa grave;
- Foco de esteatose difusa moderada em jejum;
- Presença de moderada quantidade de alimento parcialmente gelificado em luz gástrica;
- Presença de massas hialinas difusas e compactas moderadas;
- Bactérias pouco espalhadas por urina amarela palida;
- Bactérias gráves e feixes dentro dos pulmões e fígado macroscópicos da formalidade, incluindo baço, pâncreas, testículos, fígado, adrenais e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsavel: Fernanda Lucilene Salvagni - CRM-SP 24878

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Materiais: Fragmentos de coágulo, fígado, rim, laringe e SNC.

Histopatológicos:

- Coágulo N-2-N-1, hiperfibrinogenada profunda, multifocal difusa, aderente à parede da cavidade, aderência necrótica e hiperplasia compensatória da lamina muscular e hiperplasia difusa das laminae com vascularização nuclear;
- Músculo cardíaco, não foram observadas inclusões vitais na amostra;
- Bactérias focos de necrose epitelial difusa e presença de pequena quantidade de material granular como na luz;
- SNC: Cordeiro difusa difusa.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsavel: Fernanda Lucilene Salvagni - CRM-SP 24878

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsavel: Paulo Henrique Bernardes - CRM-SP 13.459

RESULTADO DE EXAME BIOTECNICO-CHAV VALORES DE REFERENCIA

Crescimento: 0,156 mg/dL

Observações: PLASMA COM ESTRA

Medico: ---





RE 27143 PAINEL GLICOSE FEMEA 1
25/05/2012 20

Proprietário: ANVI
Comunidade: SANZI
Município: SANZULA MATRIZ

Data: 19/12/2012
Idade:

HEMODINAMIA SIVETERES

HEMODINAMIA	VALORES DE REFERENCIA	ATENÇÃO VALORES DE REFERENCIA
HEMAGLIAS	5,2	3,1V/6,1L
HEMOCRIÇÃO	16	1
HGB (g/dl)	12,3	NÃO DISPONÍVELS PARA ESTA
HCT (%)	69,43	ESPECIE ANIMAL.
GMCH	34,17	
PROTEÍNAS TOTAIS	6,2	g/dL
LEUCOCITOS	9089	/dL
Neutrófilos	0	
Basófilos	0	
Linfócitos	0	
Monócitos	0	
Plaquetas	90	4100
Ureia	0	
Creatinina	0	
Bilirrubina	0	

PROTEÍNAS: MEIA DROGA DE BOM
CONDIÇÃO: ANISOCITOS DE HEMACIAS (-)-

ANESTESIA: SANGUE TOTAL EM ESTA

Certificado e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Paulo Henrique Barzotto - CRMV-SP 15.489

RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEAT VALORES DE REFERENCIA
Coeficiente: 0,62 mg/dL VALORES DE REFERENCIA NÃO
Observações: PLASMA COM ESTA DISPONÍVELS PARA ESTA ESPECIE

Método:

Certificado e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricciardi - CRMV-SP 24296
RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERENCIA
ALT (U/L): 33 0/2, 31°C VALORES DE REFERENCIA NÃO
Observações: PLASMA COM ESTA DISPONÍVELS PARA ESTA ESPECIE
Método: CLÁSSICO DE LAPORE.

Certificado e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricciardi - CRMV-SP 24296
RESULTADO DE EXAME NEUROLOGICO
Exame Externo: Rebeido animal em bom estado inicial, apresentando mucosas
pálidas.

- Exame Neuropatológico:
- Inco-ord. gineal
 - Foco de anestesia de cabeça aquilado em cabeça
 - Comport. e reat. palmoar distal grave
 - Ausência de resposta a estímulos dolorosos discretos por estímulos
 - Ausência de resposta voluntária de reflexos patológicos produzidos em 30s
 - Bexiga pouco espelta por urina amarelada palha
 - Demais reflexos e testes dentro dos padrões morfologia com macrocefalia de normalidade, incluindo bexiga, pterea, útero, ovário, adrenal e SNC.

Certificado e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Estelma Lucatelo Salviani - CRMV-SP 24878
RESULTADO DE EXAME NEUROLOGICO
Materiais: Fmpernos de corpo, fígado, rim, testigo e SNC.
Neuropatológico:

- Coração: N.3.N.4
- Espinha: medula hidroencefalica periferica multifocal discreta com discreta
- Rm: Chagaio distal moderada e ataxia discreta
- Bexiga: Foco de desamalgão epitelial moderada
- SNC: N.3.N.4





RE: 3744 Paciente: GLUCOSE FEMEA 2
28/02/2012 12:26:00

Proprietário:
Convênio: PARTI
Médico: ANA JULIA MONTEA
Data: 19/12/2012
Idade:

HEMOGRAMA SIVESTRES

ESTRUTURAS:	VALORES DE REFERENCIA	ATENÇÃO: VALORES DE REFERENCIA
Hemácias:	5,4	10 ¹² /L
Hematócrito:	19	%
Hemoglobina:	13,17	g/dL
Hemoglobina:	32,75	g/dL
CHICK:		
PROTEÍNAS TOTAIS:	6,4	g/dL
LEUCOCITOS:	6700	/HL
Neutrófilos:	0	%
Linfócitos:	0	%
Bastonetes:	19	1273
Segmentados:	79	2293
Monócitos:	0	0
Eosinófilos:	2	134
Banofílos:	0	0

PLAQUETAS:
NADA DIFER DE NOTA
ANISOCITOS DE HEMÓCITAS (-)=-

ANÁLISE:
SANGRE TOTAL EM EDTA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Langrêde - CRM-SP 13221
RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEAT VALORES DE REFERENCIA
Creatinina: 0,60 mg/dL VALORES DE REFERENCIA NÃO
OBSERVAÇÕES: PLASMA COM EDTA DISPONÍVELS PARA ESTE
MÉTODO: PLASMA COM EDTA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Riccardi - CRM-SP 24876

RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERENCIA
ALT (TGP): 34 U/L 37°C VALORES DE REFERENCIA NÃO
OBSERVAÇÕES: PLASMA COM EDTA DISPONÍVELS PARA ESTE
MÉTODO: PLASMA COM EDTA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Riccardi - CRM-SP 24876
RESULTADO DE EXAME NEFROLÓGICO
Exame Externo: Recibido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosa
pálidas.

Exame Nefroscópicos:
- Insuficiência renal
- Focos de edema
- Congestão e hemorragia pulmonares difusas graves
- Alterações intestinais: placas por ístercos e moderadamente desidratadas por gás
- Presença de moderada quantidade de alimento parcialmente quitrificado em luz
- Mucosa pouco espessa por urina amarelada palha
- Congestão renal difusa bilateral moderada
- Demais órgãos e tecidos dentro dos padrões morfológicos macroscópicos de
normalidade, incluindo oeq, pâncreas, fígado, vesícula, intestino e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvagni - CRM-SP 24878
RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-GLICO
Materiais: Fragmentos de corvado, fígado, rim, bexiga e SNC.
Histopatológico:
- Congestão renal
- Insuficiência renal
- Focos de edema
- Rót. Congestão difusa moderada e análise discreta
- Bexiga: Focos de desidratação epitelial moderada
- SNC: N.D.M.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvagni - CRM-SP 24878





RE: 2724/Prêmio: GLICOSE FEMEA 3
EX: 0103 DEXSO

Proprietário:
Convênio: PAVT

Data: 19/12/2012
Idade:

EXAME CANCELADO - HEMOGLOBINA, HEMATÓCITO, HEMATÓCITO CRISTALINO, EM ESTÁ, MOTIVO DO CANCELAMENTO: AMOSTRA COMBUIDA, COMENTÁRIO NO SOLICITANTE: SEM IDA, DANTELEI, OBS: DEIXADO FICANDO NA CAIXA POSTAL DO CUIDAR.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Lanzetta - CRM-SP 12621

RESULTADO DE EXAME RIQUÍMICO-GBAV VALORES DE REFERENCIA VALORES DE REFERENCIA NÃO
Cristalinos: 0,69 mg/dL DISPONÍVELS PARA ESTÁ ESPÉCIE

Observações:
FASMA COM ESTV

RESULTADO DE EXAME RIQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERENCIA VALORES DE REFERENCIA NÃO
ALT (típico): 144 U/L 37°C DISPONÍVELS PARA ESTÁ ESPÉCIE

Observações:
FASMA COM ESTV Clínicos orientado.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Riccardi - CRM-SP 24296
RESULTADO DE EXAME NEURORRÓCIOS
Exame Externo: Parecido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas
pálidas.

Exame Neuroológico:

- Hemorragia retinal?
 - Foco de abcessão da cabeça associado em cérebro?
 - Compressa e hemorragia pulmonares difusas graves?
 - Ausência intestinal repulsa por ígria e moderadamente distendida por gás gástrico?
 - Ausência de resposta quando do estímulo parietal-quadrante em 2L?
 - Boeira pouco repulsa por urina amarelo-pálida?
 - Boeira rigida e reação dentro dos parâmetros normais da reatividade, irritação leve, glicose, úreia, vitreio, aderência e SNC.
- Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvagni - CRM-SP 24878

RESULTADO DE EXAME NEURORRÓCIOS
Exame Externo: Parecido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas
pálidas.

Exame Neuroológico:

- Congênito N.D.N.?
- Fígado: repulsa hiperplásica pericelular multifocal discreta com discreta
distensão de parênquima, ausência discreta e áreas focais de deposição
de material denso no interior de células reais?
- Baço: N.D.N.?
- SNC: N.D.N.?

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvagni - CRM-SP 24878





RE: 27146 Paciente: GLUCOSE MACHO 4
23/02/13 12:30

Proprietário: **PARTI**
Convenção: **PARTI**
Médico: **ANA PAULA VASZTA**

Data: 19/12/2012
Idade:

HEMOGRAMA SIVERTENS

VALORES DE REFERENCIA

ATENÇÃO! VALORES DE REFERENCIA

Parâmetro	Valor	Unidade	Referência
Hemácias	5,9	x10 ⁶ /µL	NÃO DISPONÍVEL PARA ESTA ESPÉCIE ANIMAL.
Hematócrito	42	%	
Hemoglobina	13,9	g/dL	
HGB	31,18	g	
HCT	31,18	%	
PROTEÍNAS TOTAIS	6,2	g/dL	
LEUCOGRAMA:			
Leucócitos	6200	/µL	
Neutrófilos	0	%	
Bastões	0	%	
Linfócitos	14	%	
Segmentados	86	%	
Monócitos	0	%	
Eosinófilos	0	%	
Basófilos	0	%	

PLAQUETAS: **NÃO DADO DE NOTA**
COMENTÁRIOS: **NÃO DADO DE NOTA**

ANÁLISE: **SANGUE TOTAL EM EDTA**

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Paulo Henrique Barreto - CRM-SP 15.459

RESUMO DE EXAME HIOQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERENCIA

CREATININA: 0,61 mg/dL VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVELS PARA ESTA ESPÉCIE

PLAQUA COM EDTA

Método:

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricciardi - CRM-SP 24296

RESUMO DE EXAME HIOQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERENCIA

ALT (TPP): 38 U/L 37°C DISPONÍVELS PARA ESTA ESPÉCIE

Observações: **PLAQUA COM EDTA**

Método: **CLÍNICO QUÍMICO**

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricciardi - CRM-SP 24296

RESUMO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Exame Externo: Recibido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Exame Microscópico:

- Hado: cor gástrica;
- Cordeão esofágico e piloro: mucosa gástrica normal;
- Ácrida intestinal: regular por ímpeto e moderadamente distendida por gás;
- Presença de moderada quantidade de alimento parcialmente triturado em 1/2;
- Sais em agregação hídrica discreta e compacta difusa moderada;
- Bactéria pouco repleta por urina amarelo-pálida;
- Demais órgãos e tecidos dentro dos padrões morfológicos macroscópicos de referência, incluindo fígado, pâncreas, estômago, fêmur, adenoide e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvarini - CRM-SP 24878

RESUMO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Materiais: Fragmentos de coração, fígado, rim, bexiga e SNC.

Impressões:

- Coração: M.D.M.;
- Fígado: hiperplasia regenerativa multifocal discreta, com áreas moderada a moderada de esteatose. Focais multifocais centrolobulares discretas com hepatólise e atrofia discreta das hepatócitos com vacuolização nuclear multifocal discreta. Não foram observadas lesões citológicas ou estruturais significativas. Não foram observadas alterações de imunidade celular. Não foram observadas alterações de imunidade celular. Não foram observadas alterações de imunidade celular. Não foram observadas alterações de imunidade celular.
- Bexiga: Focos de descamação epitelial discreta.
- SNC: M.D.M.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvarini - CRM-SP 24878





RE: 27747 Paciente: GLUCOSE MACHO 5

23/12/2013 12:32:00

Proprietário:

Clínica: DARTI

Médico: ANA PAULA NOBRETTA

Data: 19/12/2012

Idade:

EXAME SOLICITADO: HEMOGRAMA,

MATERIAL ENVIADO: SANGUE TOTAL EM EDTA

CONDIÇÃO DE ENVIO: ANÁLISE COMPLETA

FOR: DRLAUCIANA

ORIGEM: DEIXADO RECIBO NA CLÍNICA POSTAL DO CELULAR.

Conferido e Análise Eletroliticamente pelo Sempama/VI: Luciana Landeira - CRM-SP 24286

RESUMO DE EXAME BIOQUÍMICO-CLÍNICO VALORES DE REFERÊNCIA

Creatinina: 0,69 mg/dL DESCONHECIDA PARA ESTA ESPÉCIE

Observações: PLASMA COM EDTA

Método:

Conferido e Análise Eletroliticamente pelo Sempama/VI: Kátia Ricciardi - CRM-SP 24286

RESUMO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO VALORES DE REFERÊNCIA

ALT (TSP): 51 U/L 37°C DISCONHECIDA PARA ESTA ESPÉCIE

Observações: PLASMA COM EDTA

Método:

Conferido e Análise Eletroliticamente pelo Sempama/VI: Kátia Ricciardi - CRM-SP 24286

RESUMO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Exame Macroscópico:

- Hemicorpo grave;
 - Foco de aderência de coágulo sanguíneo em coração;
 - Congestão e hemorragia pulmonares difusas graves;
 - Presença de material gelatinoso e amarelado aderido ao pulmão esquerdo em 2/3 da extensão;
 - Sinal de estase de secreções moderada;
 - Sinal de estase de secreções moderada;
 - Demais órgãos secos dentro dos padrões fisiológicos macroscópicos da normalidade, incluindo fígado, pâncreas, testículos, rins, adrenais e SNC.
- Conferido e Análise Eletroliticamente pelo Sempama/VI: Fernanda Azeiteiro Balduino - CRM-SP 24879

RESUMO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Materiais: Fígado, rim, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Cordeão N.D.N.F.
- Fígado: Hepatite interlobulocelular periportal multifocal discreta, degeneração vascular fígado e macrofoculillar ectoportal moderada dos hepatócitos;
- Bexiga: N.D.N.F.
- SNC: N.D.N.F.

Conferido e Análise Eletroliticamente pelo Sempama/VI: Fernanda Azeiteiro Balduino - CRM-SP 24879





RE: 27148 Paciente: QUICORSE MACHO 6
23/09/12 200

Proprietário:
Convênio: NUNTI
Médico: ANA FÁBIA MONTEIRO

Data: 19/12/2012
Idade:

HEMOGRAMA SIVESTRES VALORES DE REFERENCIA

ESTIMADA:	VALOR	UNIDADE	REFERENCIA
Hemácias:	6,3	x10 ⁹ /L	MINIMO VALORES DE REFERENCIA
Hematócrito:	41	%	MINO VALORES PARA ESTA
Hemoglobina:	13,4	g/dL	MINO VALORES PARA ESTA
HbA1c:	69,33	g/g	ESPECIE ANIMAL.
Hemoglobina:	32,68	g	
PROTEÍNAS TOTAIS:	6,3	g/dL	
LEUCOCITOS:	4800	/dL	
Neutrófilos:	0	%	
Linfócitos:	0	%	
Monócitos:	0	%	
Eosinófilos:	0	%	
Basófilos:	0	%	
Plaquetas:	1	10 ⁹ /L	
Retículo endoplasmático:	1	48	
Basófilos:	0	%	

PLAQUETOS ---
COMENTÁRIOS: ANÁLISES DE HEMÓCITOS (+)---

ANÁLISE: ANÁLISE TOTAL EM ESCA
PLAQUETAS HEMULSÃO ---
MICROSCÓPIO

Condição e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Langrafte - CRM-SP 12421

RESULTADO DE EXAME BIOCQUÍMICO-QUÍMICO VALORES DE REFERENCIA

Observações: PLASMA HEMULSADO ---
PLASMA SEM HEM

Método:

Condição e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Riccardi - CRM-SP 24296
RESULTADO DE EXAME BIOCQUÍMICO-ALF VALORES DE REFERENCIA
ALT (GPT): 19 U/L 37°C DISPOSITIVOS PARA ESTA ESPÉCIE
VALORES DE REFERENCIA MIO
Observações: PLASMA HEMULSADO ---
Método: PLASMA SEM HEM Clotico diluído.

Condição e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Riccardi - CRM-SP 24296
RESULTADO DE EXAME BIOCQUÍMICO
Exame Externo: Recolha animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas
pálidas.

Exame Macroscópico:
- Ingestão rápida;
- Foco de aderência de coágulo azulado no córneo;
- Corneio e hemoconia pulmonares difusos graves;
- Alveolos pulmonares com congestão e moderadamente dilatados por derrame
- Hêmorragia moderada difusa no sistema pulmonar, com presença de
- Sangue pouco espesso por urina amarelo-pálida
- Sangue amarelo-pálido moderado nos rins
- fígado, pâncreas, fígado, vesícula, intestino, estômago, aderência e SNC.

Condição e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Stefania Augusta Salgueiro - CRM-SP 24879
RESULTADO DE EXAME MICROSCÓPIO
Método: Imprimido em corado, fixado, com hemato e SNC.

Exame Microscópico:
- Cordeiro: Microscópio Interlamelar com focal nodosa com participação de
- Arteríolas em ventrículo direito;
- Fígado: Hêmorragia interlamelar perivascular, múltiplas discreta;
- Hêmorragia moderada difusa no sistema pulmonar, com presença de
- Hêmorragia moderada difusa no sistema pulmonar, com presença de
- SNC: N.D.N..

Condição e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Patrícia Augusta Salgueiro - CRM-SP 24879





RE: 27149 Paciente: 100 X FEMEA 1

Proprietário:
 Nome do Paciente:
 Médico: ANA PAULA MARTINS

Data: 19/12/2012
 Idade:

LABORATORIA SIVETESTS VALORES DE REFERENCIA

HEMOGRAMA:			
Hemoglobina:	5,6	11,0 g/dL	ATENÇÃO: VALORES DE REFERENCIA
Hematócrito:	19	1 g/dL	NÃO DISPONIVEL PARA ESTA
Hemoglobina:	13,5	g/dL	ESPECIE ANIMAL.
MCV:	69,64	µ³	
CMV:	34,62	f	
PROTEÍNAS TOTAIS:	7,4	g/dL	
LIDOCORINA:			
Lidocorina:	7,80	µM	
NEUTRÓFILOS:			
Neutrófilos:	0	0	
Bastonetes:	0	0	
Segmentados:	10	740	
Linfócitos:	89	6942	
Eosinófilos:	1	79	
Basófilos:	0	0	

PLAQUETAS: NADA COMO DE NOTA

COMENTÁRIOS: NADA COMO DE NOTA

ANOTAÇÕES: SANGRE TOTAL EM EDTA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Paulo Henrique Barczak - CRM-VET 15.459

RESUMO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERENCIA

Creatinina:	0,48	mg/dL	DISPONIVEL PARA ESTA ESPECIE
Observações:	PLASMA COM EDTA		

Método:

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Riccardi - CRM-VET 24296

RESUMO DE EXAME BIQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERENCIA

ALT (TGP):	35	U/L 37°C	DISPONIVEL PARA ESTA ESPECIE
------------	----	----------	------------------------------

Observações: PLASMA COM EDTA

Método: CLÍNICO OBTIMADO

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Riccardi - CRM-VET 24296

RESUMO DE EXAME NEUROLOGICO

Exame externo: paciente animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas

Exame Macroscópico:

- Hematócitos azuis;
- Focos de aderência em cólon ascendente em contato com a parede abdominal;
- Algas laterais espessas por lipemia e moderadamente desidratadas por gás;
- Presença de moderada quantidade de alimento parcialmente gelificado em J2Z gástrico;
- glicose em concentração hemática moderada e conservado nível moderado;
- Bactérias presentes em fezes dentro dos padrões morfotipologia macroscópica da espécie;
- Bactérias presentes em urina amarela palha;
- Demais órgãos e tecidos dentro dos padrões morfotipologia macroscópica da espécie, incluindo fígado, pâncreas, útero, ovários, rim, adrenal e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Lucileia Salvaoni - CRM-VET 24878

RESUMO DE EXAME ANATOMOPATOLOGICO

Materiais: Fígado, rim, bexiga e SNC.

Histopatológicas:

- **Condição geral:** Infertilidade moderada a severa, com presença de diarreia moderada, deprimido e moderadamente desidratado com
- **Hematócitos:** diarreia moderada a severa, com presença de diarreia moderada a severa
- **Bactérias:** M.D.N. /
- **SNC:** M.D.N.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Lucileia Salvaoni - CRM-VET 24878





RE: 272190 Paciente: 100 X FEMEA 2
21/03/2012 12:30:00

Proprietário:
Convênio: PAVET
Método: ANA PLACA INGESTA

Data: 19/12/2012
Idade:

HEMOGRAMA SILVESTRE

VALORES DE REFERENCIA

ESTIMADO	ATENÇÃO: VALORES DE REFERENCIA
Hemácias:	5,6 x10 ⁶ /µL
Hematócrito:	40 %
Hemoglobina:	11,1 g/dL
HGB:	32,75 g/dL
CHCM:	32,75 %
PLAQUETAS TOTAIS:	6,8 /µL
LEUCOCITOS:	4200 /µL
Neutrófilos:	0 %
Linfócitos:	0 %
Bastonetes:	0 %
Segmentadas:	16 640
Linfócitos:	81 3240
Eosinófilos:	2 80
Basófilos:	0 0

PLAQUETAS:

COMENTÁRIOS:

NAO DIANO DE NCM

ANOTAÇÃO: SANGUE TOTAL EM ESTA MICROSCÓPIOS

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Langosta - CRM-SP 12621

RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERENCIA

Condições: 0,30 mg/dL VALORES DE REFERENCIA NAO DISPONIVEIS PARA ESTA ESPECIE
Observações: PLACMA COM EDTA

MICROSCÓPIOS

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricciardi - CRM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERENCIA

ALT (TPP): 33 U/L 37°C VALORES DE REFERENCIA NAO DISPONIVEIS PARA ESTA ESPECIE

Observações: PLACMA COM EDTA

Método: CLÍNICO AUTOMATIZADO

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricciardi - CRM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME MICROSCÓPIO
Exame Externo: Recolho animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Exame Macroscópico:

- Hemorragia gástrica;
- Congestão e hipertrofia pulmonares difusas graves;
- Alças intestinais repletas por inseta e moderadamente distendidas por gás;
- Focos de enterite estiva discreta a moderada em jejuno/íleo;
- Focos de necrose quantitativa do alimento predominantemente gástrico em íleo;
- Bexiga pouco repleta por urina amarelada pálida;
- Demais órgãos e tecidos dentro dos padrões morfológicos macroscópicos da espécie, incluindo fígado, útero, ovários, rim, adrenal e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aurélio Salvadori - CRM-SP 24878

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

MATERIAL: Fragmento de coração, fígado, rim, testigo e SNC.

Histopatológico:

- Coração: N.D.M.
- Fígado: Hepatite intersticial multifocal discreta com participação discreta de neutrófilos;
- Rim: Congestão difusa discreta, atrofia discreta e foco de dilatação de cápsula por abscesso moderado emoldilhado associado de material proteináceo;
- Bexiga: Foco de descolamento epitelial moderado;
- SNC: N.D.M.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aurélio Salvadori - CRM-SP 24878



RE: 272191 Paciente: 100 X FEMEA 3
23/7/2013 12:32:00

Proprietario:
Convênio : PARTI
Médico : ANA RAJUA VASSETTA

Data: 19/12/2012
Idade:

HEMOGRAMA SIVESTRES

VALORES DE REFERENCIA

		ATENÇÃO! VALORES DE REFERENCIA
ERITROCITAS:	5,4	x10 ⁶ /µL
Hemácias:	40	MÃO DISCONVIENTIS PARA ESTA
Hemoglobinas:	13,0	g/dL
HCT:	74,07	%
CHCM:	32,50	g/dL

PROTEINAS TOTAIS:

6,6 g/dL

LEUCOGRAMA:

Leucócitos:	4500	/µL
Neutrófilos:	0	0
Linfócitos:	0	0
Bastonetes:	0	0
Segmentados:	9	405
Linfócitos:	88	3960
Monócitos:	0	0
Eosinófilos:	0	0
Bastões:	0	0

PLAQUETAS: NADA DIGNO DE NOTA

COMENTÁRIOS: NADA DIGNO DE NOTA

AMOSTRA: SANGUE TOTAL EM EDTA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Paulo Henrique Bertazzo - CRMV-SP 15.459

RESULTADO DE EXAME BIOQUÍMICO-CREAT

VALORES DE REFERENCIA

CREATININA:	VALORES DE REFERENCIA	UNIDADES DE REFERENCIA
0,87	mg/dL	DISTINGUIVÉIS PARA ESTA ESPÉCIE

Observações: PLASMA COM EDTA

Método:

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Riccardi - CRMV-SP 24296

RESULTADO DE EXAME BIOLÓGICO-ALT

VALORES DE REFERENCIA

ALT (TGP):	VALORES DE REFERENCIA	UNIDADES DE REFERENCIA
65	U/L 37°C	DISTINGUIVÉIS PARA ESTA ESPÉCIE

https://www.resultados.com.br/laudo.aspx?sr=248882110e1c1u0y0q2y2f22a86210... 23/7/2013

Observações: PLASMA COM EDTA

Método: Clotético Otimizado.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Riccardi - CRMV-SP 24296

RESULTADO DE EXAME NEGROSCÓPICO

Exame Diurno: animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Exame Macroscópico:

- Hematórax grave;
- Focos de aderência de coágulo sanguíneo em coração;
- Congestão e hemorragia pulmonares difusas graves;
- Alças intestinais repletas por ingestão e moderadamente distendidas por gás;
- Presença de moderada quantidade de alimento parcialmente quantificado em luz;
- Sinais de esteatose hepática moderada e congestão difusa moderada;
- Sinais de esteatose hepática moderada e congestão difusa moderada;
- Bexiga pouco repleta por urina amarelada palha;
- Demais órgãos e tecidos dentro dos padrões morfológicos macroscópicos da normalidade, incluindo bexiga, pâncreas, útero, ovários, rins, adrenais e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Anacleto Salvaoni - CRMV-SP 2487

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Materiais: Fragmentos de coração, fígado, rim, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Coração: N.D.N.;
- Fígado: Hepatite inflamatório-microcítica periportal multifocal discreta, congestão difusa moderada, degeneração microcitológica centrolobular moderada dos hepatócitos e esteatose discreta dos hepatócitos com vacuolização nuclear multifocal discreta. Não foram observadas inclusões virais na amostra;
- Rim: Congestão difusa discreta, atrofia discreta e raros focos de deposição de material homogêneo eosinofílico nos túbulos renais;
- Bexiga: Focos de descamo epitelial discreta;
- SNC: N.D.N..

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Anacleto Salvaoni - CRMV-SP 2487

☐

X

https://www.resultados.com.br/laudo.aspx?sr=248882110e1c1u0y0q2y2f22a86210... 23/7/2013



RE-37452-Redem: 100 X MALCHO 4
21/0013 123030

Proprietário: SIVET
Convênio: SIVET
Médico: ANA VANDA VASSETZ

Data: 19/12/2012
ZAMM

PROBACAO SIVET/2012 VALORES DE REFERENCIA

EXAME/UNID:	VALORES DE REFERENCIA	ATENÇÃO: VALORES DE REFERENCIA
HEMATÓCITOS:	5,7	X10 ⁶ /UL
HEMATÓCRITO:	43,9	%
HEMOGLOBINA:	12,9	g/dL
HGB:	12,9	g/dL
HCT:	38,00	%
PLAQUETAS TOTAIS:	6,6	q/dL
LEUCOCITOS:	6600	/UL
Neutrófilos:	0	%
Linfócitos:	0	%
Bastonetes:	23	%
Monócitos:	23	%
Eosinófilos:	3	%
Bastonetes:	1	%
Bastonetes:	0	%

PLAQUETAS: NÃO TEM NOTA
COMENTÁRIOS: ANEXOCTORES DE HEMACIAS (+)---

ANÁLISE: SANGUE TOTAL EM ESTUA
PLASMA HEMOLISADO ---

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Landgraf - CRM-SP 12821
RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERENCIA
Creatinina: 0,66 mg/dL VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVEIS PARA ESTA ESPÉCIE
Observações: PLASMA HEMOLISADO ---
PLASMA COM ESTUA

Método:

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricardo - CRM-SP 24296
RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVEIS PARA ESTA ESPÉCIE
Até (Cg/L): 35 U/L 37°C VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVEIS PARA ESTA ESPÉCIE
Observações: PLASMA HEMOLISADO ---
Método: PLASMA COM ESTUA Clamato clínicas.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricardo - CRM-SP 24296
RESULTADO DE EXAME NEFROLOGICO
Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando micção pastosa.

Exame Macroscópico:
- Ingestão de grãos
- Focos de azotemia no cãbulo associado ao cãbulo
- Consistência e homogeneidade pulmonares difusas graves
- Alças intestinais repletas por líquido e consistentemente desidratadas por gás
- Ausência de presença quantitativa de dióxido de carbono peristalticamente visível em um útero
- Bexiga pouco repleta por urina amarela palha
- Demais órgãos e tecidos dentro dos padrões morfológicos macroscópicos da espécie, porém com alterações de cor, estrutura e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Lucille Salazar - CRM-SP 24878
RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO
Método: Empedido em coração, fixado, etc, fixado e SNC.
Histopatológico:
- Estrada: N.A.N.A.
- Fígado: Regenera linfocitos associada a perfecia multifocal difusa;
- Rim: Arterioles difusas e focos de necrose tubular difusa;
- Bexiga: Focos de contaminação gástrica difusa e pequena quantidade de material - SNC: N.A.N.A.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Sercenia Lucille Salazar - CRM-SP 24878





RE: 27151 Pedido: 100 X MARÇO 5
23/02/2013 13:28:00

Proprietário:
Nome: **FRANCISCA PEREIRA**
Morada: **RUA SILVA VAZQUEZ**

Data: **19/12/2012**
Idade: **3 ANOS**

HEMOCROMA SIVESTERIS

VALORES DE REFERENCIA

ATENÇÃO: VALORES DE REFERENCIA

EXTENSÃO:	VALOR	UNIDADE	REFERENCIA
Hemácias:	4,4	10 ⁶ /µL	NÃO DEFINITIVAS PARA ESTA ESPÉCIE ANIMAL.
Hematócrito:	12	%	
HGB:	70,31	g/dL	
HCT:	32,24	%	
PLAQUETAS:	6,2	g/dL	
LEUCÓCITOS:	7700	/µL	
Neutrófilos:	0	%	
Linfócitos:	0	%	
Bastonetes:	0	%	
Monócitos:	12	%	
Eosinófilos:	2	%	
Basófilos:	0	%	

PLAQUETAS:

COMENTÁRIOS:

NÃO TIPO DE WDTX

ANÁLISE:

SANGRE TOTAL EM EDTA
MICROSCÓPIO

Conteúdo e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Raúlo Henrique Barreto - CRM-SP 15.459

RESUMO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERENCIA

CONSTITUÍNTES	VALOR	UNIDADE	VALORES DE REFERENCIA NAO DEFINITIVAS PARA ESTA ESPÉCIE
GLICOSE	4,88	mg/dL	
UREIA	1,14	mg/dL	
PLASMA COM EDTA			

MÉTODOS:

Conteúdo e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Ricciardi - CRM-SP 24296

RESUMO DE EXAME BIQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERENCIA

ACT (TPP):	VALOR	UNIDADE	VALORES DE REFERENCIA NAO DEFINITIVAS PARA ESTA ESPÉCIE
ACT (TPP):	48	U/L 37°C	
Observações:			PLASMA COM EDTA
Método:			Clínico rotineiro.

Conteúdo e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Ricciardi - CRM-SP 24296

RESUMO DE EXAME NEFROLÓGICO

Exame Externo: Resultado animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas.

Exame Nefroscópio:

- Hemácias granadas;
- Focos de acidificação no cólon ascendente do cólon;
- Congestão e hemorragia pulmonares difusas graves;
- Alças intestinais espessadas por espessa e congestão distendida por gás;
- Presença de mucosa granulosa de aspecto predominantemente plasmático em luz gástrica;
- Bexiga pouco repleta por urina amarelada palha;
- Presença de urina amarelada em porções nefrológicas sacrocólicas de normalidade, incluindo bexiga, fígado, pâncreas, testículos, adrenais e SNC.

Conteúdo e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Augusto Salvagni - CRM-SP 24878

RESUMO DE EXAME NEFROLÓGICO

Materiais: Fragmentos de cólon, fígado, rim, bexiga e SNC.

Histopatológicos:

- Cólon: Congestão difusa discreta em mucosa;
- Fígado: Hepatite linfoplasmocitária portal multifocal discreta e congestão difusa discreta;
- Bexiga: Congestão difusa moderada, focos de congestão tubular discreta e audível;
- Bexiga: Focos de congestão epitelial discreta e pequena quantidade de material granular eosinófilo na luz;
- SNC: N.D.M.

Conteúdo e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Augusto Salvagni - CRM-SP 24878





RE: 272154 Patente: 100 X MACIÑO 6
23/12/2013 15:35:00

Proprietario: XARTE
Examen: XARTE
Medio: AN, ÚNICA VÍA

Data: 13/12/2013
Idade: 3 meses

INFORMACIÓN

VALORES DE REFERENCIA

ESPIROMETRIA: 6,3 1106/6/LL ATENCIÓN VALORES DE REFERENCIA
Frecuencia: 14,3 1º /ML RMO DISPOSITIVOS PARA ESTA
VCM: 69,84 2º /ML REFERIR ANUAL.
CMCH: 32,50 3º /ML
PUNTEO TOTAL: 6,9 6/ML

LEUCOCITOS

Leucocitos: 7200 /ML
Neutrófilos: 0 0
Linfocitos: 1 0,5
Monocitos: 88 6/108
Eosinófilos: 0 0
Basófilos: 0 0

PLAQUETAS

Plaquetas: 180000 /ML

COMENTARIOS

NOA DIGNO DE NOTA

ANOTAR:

SANGRE TOTAL EN ESTA

Confirido e Asinado Electronicamente polo Responsavel: Paula Henrieta Berrazo - CNM-SP 15.459

RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERENCIA

Creatinina: 0,76 mg/dL VALORES DE REFERENCIA ISO
DISPONIBLES PARA ESTA ESPECIE
Observacións: PLASMA CON ESTRA

Métodos:

Confirido e Asinado Electronicamente polo Responsavel: María Ricardo - CNM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERENCIA

ALT (TGP): 40 U/L 31°C VALORES DE REFERENCIA ISO
DISPONIBLES PARA ESTA ESPECIE

Observacións: PLASMA CON ESTRA

Método: Clásico oxidativo.

Confirido e Asinado Electronicamente polo Responsavel: María Ricardo - CNM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME NEFROSCÓPICO

Exame Externo: fechido normal, en bon estado nutricional, presentando mucosas
salidas.

Exame Microscópico:

- Hemacia gran:
- Focos de atrofia na colgaño azulado en conxunto.
- Conxunto e mucronia pulmonares difusas graves.
- Algunhas células eucariotas poden estar moderadamente distendidas por ósmo.
- Presenza de moderada cantidade de alimento parcialmente cualificado en luz.
- gástrico:
- gástrico: material granular azulado e agrupado hepático difuso moderado.
- Bactias como septas por unha amada palida.
- Penla (grana e tendos) dentro das fendas morfolóxicas macroscópicas da formalidade, incluíndo bazo, pancreas, testículos, fígado, adenoma e SNC.

Confirido e Asinado Electronicamente polo Responsavel: Fernanda Anacleto Salvagni - CNM-SP 24878

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓXICO

Materiais: Fragmentos de conxunto: fígado, rim, testis e SNC.

Histopatolóxico:

- Corazón: N.D.N.
- Fígado: hepatite interlobulillar periporta multicéntrica discreta, conxunto moderado a grave dos hepatocitos.
- Rim: Conxunto difusa discreta, análise discreta, focos de descomposición tubular discreta e zonas focais de deposición de material basófilo lamelar no interior de túbulos.
- Bactias: Focos de descomposición epitelial discreta e presenza de pequena cantidade de material granular (ósmo na luz).
- SNC: Conxunto difusa discreta.

Confirido e Asinado Electronicamente polo Responsavel: Fernanda Anacleto Salvagni - CNM-SP 24878





RE: 27266 Padem: 000 X 1 FEMEA
23/2013 12:200

Proprietário: ---
Medico: ANA MARIA MOREIRA

Data: 18/12/2012
Idade: /

INDICADA SIUVERTEZ

VALORES DE REFERENCIA

EXTENSÃO:	VALORES	UNIDADE	ATENÇÃO: VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONIVEIS PARA ESTA
Reações:	4.1	g/dL	
Hemoglobina:	13.7	g/dL	
HCT:	39.43	%	
HEMOGLOBINA:	6.2	g/dL	ESPECIE ANIMAL.
PROTEÍNAS TOTAIS:			
ALBUMINA:	4.90	g/dL	
GLOBULINAS:	0	g/dL	
Albuminas:	0	g/dL	
Bastonetes:	12	972	
- Segmentados:	81	6882	
Monocitares:	0	0	
Eosinofílicos:	3	243	
Bastões:	0	0	

PLAQUETAS: NADA DIGNO DE NOTA
COMENTÁRIOS: NADA DIGNO DE NOTA

ANOTAR: SANGUE TOTAL EM EDTA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Langreffe - CRM-DF 12621
RESULTADO DE EXAME SIUVERTEZ-CAAT VALORES DE REFERENCIA /VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONIVEIS PARA ESTA ESPÉCIE
 Condição: 0.56 g/dL
 Observações: FALSA COM EDTA
 Método:

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricardo - CRM-DF 24286
RESULTADO DE EXAME SIUVERTEZ-CAAT VALORES DE REFERENCIA /VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONIVEIS PARA ESTA ESPÉCIE
 Alt (g/dL): 46 U/L 37°C DISPONIVEIS PARA ESTA ESPÉCIE

Observações: FALSA COM EDTA
Método: Clonagem múltipla.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricardo - CRM-DF 24286

RESULTADO DE EXAME NEUROLOGICO
 Exame Externo: Recolho animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas palidas.

Exame Macroscópico:

- Hemostaz grave;
- Foco de aderência em cãbulo anelando em coração;
- Foco de aderência em cãbulo anelando em pulmão;
- Alças intestinais espessas por lipemia e moderadamente distendidas por edema;
- Foco de enterite erosiva discreta e moderada em jejuno;
- Presença de roscas gástricas de alimento parcialmente gelatinoso em um estômago com roscas gástricas de alimento parcialmente gelatinoso em um estômago;
- Bactérias pouco repetidas por urina amarelada pálida;
- Coração focal difusa bilateral moderada hiperemia e hiperplasia morfológica simpática de muralmente, incluindo bexiga, pâncreas, fígado, útero, ovários, adrenal e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernando Augusto Salimati - CRM-DF 24878
RESULTADO DE EXAME SIUVERTEZ-CAAT
 Materiais: Propriedades de coágulo, fígado, rim, coração e SNC.

Histopatológicos:

- Coração: H.D.M.J.
- Fígado: hepatite linfoplasmocitária periferica, multifocal discreta e autoinflamatória focos chevradas incluídas vitais de amarelo;
- Rim: Correlato difusa moderada e autolise discreta;
- Útero: focos de sangramento epitelial discreto;
- SNC: H.D.M.J.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernando Augusto Salimati - CRM-DF 24878





RE: 27003 Padua: 1000X 7FEMEA
22/10/2013 15:30:00

Proprietario: ---
Comunio: MARC
Médico: ANA MARIA VASSETTA

Data: 18/12/2012
24hds:

EXAME CANCELADO

HEMOGRAMA
MATERIAL ENVIADO: SANGUE TOTAL EM EDTA
MOTIVO DO CANCELAMENTO: AMOSTRA COAGULADA
COMUNICO AO SOLICITANTE: SIM (OJA.DONTELEI).
LABORATORIO: ANA MARIA VASSETTA
OBS: ---

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Landeiro - CNM-SP 12621

RESULTADO DE EXAME BIQUINICO-CHEAT VALORES DE REFERENCIA

Creatinina: 0,49 mg/dL VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVELS PARA ESTA SÉRIE DE

Observações: FASVA COM EDTA

Método:

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Suelia Kloczki - CNM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME BIQUINICO-ALT VALORES DE REFERENCIA

ALT (U271): 48 U/L 37°C VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVELS PARA ESTA SÉRIE DE

Observações: FASVA COM EDTA

Método: CLÁSSICO ORTALAMB.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Suelia Kloczki - CNM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME SICOLOGICO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas

palidas.

Exame Macroscópico:

- Foco de aderência de cápsula sangüínea em coração;
- Coração e hemorragia pulmonares difusas graves;
- Áreas de necrose espalada por órgãos e moderadamente desidratadas por gás;
- Presença de moderada quantidade de líquido pericardial em cavidade pericardial;
- Áreas de necrose hepática moderada e congestão difusa moderada;
- Demais órgãos e tecidos dentro dos parâmetros macroscópicos anormais, incluindo baço, pâncreas, fígado, rins, adrenais e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Lucivello Salvagni - CNM-SP 24878
RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO
Mucosa: Espessura de cólon, ígado, rim, bexiga e SNC.

Histopatológico:

- Cólon: N.D.M.;
- Fígado: Inflamação interlobulillar perivascular multifocal difusa, congestão difusa moderada, degeneração vacuolar microscópicar difusa moderada dos hepatócitos e atrofiação difusa dos hepatócitos com vacuolização nuclear multifocal difusa. Não foram observadas lesões focais na arquitetura;
- Bexiga: N.D.M.;
- SNC: N.D.M.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Lucivello Salvagni - CNM-SP 24878

3



RE: 2787 Paciente: 1000 3 FEMEA
23/10/2012 12:50

Proprietário: ---
Comunidade: PANZI
Município: SAN JUAN MONTA

Data: 18/12/2012
Idade:

HEMOGRAMA SIEROSSERIA

VALORES DE REFERENCIA

ATENÇÃO: VALORES DE REFERENCIA

HEMOGRAMA SIEROSSERIA	VALORES DE REFERENCIA
ERITROCITOS:	5,6 10 ⁶ /µL
Hemácritico:	42 1 g/dL
HEMOGLOBINA:	14,40 g/dL
HGB:	34,29 g/dL
PROTEÍNAS TOTAIS:	6,6 g/dL
LEUCOCITOS:	6800 /µL
NEÚTRÓFILOS:	0 0
LINFÓCITOS:	10 680
MONÓCITOS:	89 6032
ESQUÉLICOS:	1 68
PLAQUETAS:	0 0

PLAQUETAS: NADA DIGNO DE NOTA
COMENTÁRIOS: NADA DIGNO DE NOTA

ANÁLISE: SANGRE TOTAL EM ESTA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Paulo Henrique Barreto - CRM-SP 15.459

RESUMO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERENCIA

Creatinina: 0,67 mg/dL /VALORES DE REFERENCIA NÃO
Observações: PLASMA COM EDTA DISTINGUIVELS PARA ESTA ESPECIE

MASCOS:

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Ricciardi - CRM-SP 24286

RESUMO DE EXAME BIQUÍMICO-ALT VALORES DE REFERENCIA

ALT (TGP): 60 U/L 37°C /VALORES DE REFERENCIA NÃO
DISTINGUIVELS PARA ESTA ESPECIE

Observações: PLASMA COM EDTA

Município: Cláudio o. Lins

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Katia Ricciardi - CRM-SP 24286

FEITO EM: EXAME NEFROSCÓPIO

Exame Externo: Recebido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas
pálidas.

Exame Necropsiográfico:

- Hemorragia gástrica;
- Focos de aderência no cólon ascendente em cólon;
- Congestão e hemorragia pulmonares difusas graves;
- Alças intestinais regidas por líquido e moderadamente distendidas por gás;
- Alteração de consistência e quantidade de alimento parcialmente plastificado em um
- feixe que pode ser feita por uma camada palha;
- Congestão renal difusa difusa moderada;
- Congestões e edemas em todo o sistema nefrológico característico da
- síndrome nefrótica aguda, presença de glóbulos vermelhos aderidos e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucelio Salvoani - CRM-SP 24878

RESUMO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Materiais: Fragmentos de cólon, fígado, rim, bexiga e SNC.

Histopatológicas:

- Cólon: Normal;
- Fígado: Jiloflasmosíctia periporal multifocal, moderada e anisocitose
discreta dos hepatócitos com vacuolização nuclear multifocal discreta. Não foram
observadas inclusões vitais na amostra;
- Rim: Congestão difusa moderada e acidose discreta;
- SNC: N.D.N.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucelio Salvoani - CRM-SP 24878





RE: 272982 Paciente: 1000 X4 MACHO
23/10/13 12:30:00

Proprietário: ---
Convênio: PAVET
Método : ANA PAVIA MACHO

Data: 18/12/2012
Idade:

HEMOGRAMA SIVETREX

VALORES DE REFERENCIA

ESTIMADO:	HEMOGRAMA	UNID/6,0L	ATENÇÃO: VALORES DE REFERENCIA
6,1	Hemácias:	1	VALORES DE REFERENCIA PARA ESTA
45	Hematócrito:	g/dL	ESPECIE ANIMAL.
15,6	Hemoglobina:	g/dL	
38,67	Hemoglobina:	g/dL	
6,8	PLAQUETAS TOTAIS:	/uL	
6600	LEUCOCITOS:	/uL	
0	Neutrófilos:	%	
0	Linfócitos:	%	
10	Segmentados:	%	
90	Plaquetas:	/uL	
3000	Eosinófilos:	%	
0	Basófilos:	%	

PLAQUETAS:

ANISOCITOSE DE HERCITAS (%):

AMOSTRA: SANGUE TOTAL EM EDTA
MICROSCÓPIO

Conferido e Analisado Eletronicamente pelo Responsável: Luciana Langosta - CRM-SP 12621

RESULTADO DE EXAME BIOQUÍMICO-CLAV VALORES DE REFERENCIA

Creatinina: 0,67 mg/dL VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVELS PARA ESTA ESPECIE

Observações: PLASMA COM EDTA

Método:

Conferido e Analisado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricciardi - CRM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME BIOQUÍMICO-ALF VALORES DE REFERENCIA

ALT (U/L): 48 U/L 37°C VALORES DE REFERENCIA NÃO DISPONÍVELS PARA ESTA ESPECIE

Observações: PLASMA COM EDTA
Método: Método: Clonagem OxiLabs

Conferido e Analisado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Ricciardi - CRM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME MICROSCÓPIO

Exame Externo: Recolido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas pálidas e pequena quantidade de fezes firmes em região perineal.

Exame Macroscópico:

- HemoCROM grave!
- Presença de hemorragia subcutânea em abdômen
- Congestão e hemorragia pulmonares difusas graves!
- Açúcares intestinais repletos por lipídeos e moderadamente distendidos por gás!
- Presença de moderada quantidade de alimento parcialmente quimificado em 1/2
- Bexiga pouco repleta por urina amarela moderada!
- Congestão renal, difusa bilateral moderada!
- Densidade urinária e teor de proteínas morfométricas normais, incluindo urina, placenta, fígado, colúmbia, adrenas e SNC.

Conferido e Analisado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvoani - CRM-SP 24878

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Materiais: Fragmentos de coração, fígado, rim, esôfago e SNC.

Histopatológicos:

- Coração: M.D.M.: Infundamentalmente hipertrofia miocárdica difusa e atropia difusa do miocárdio com hemácias com vacuolização nuclear multifocal discreta. Não foram observadas inclusões vitais na amostra!
- Rim: Congestão difusa moderada e atrofia difusa!
- Fígado: Presença de alterações difusas moderadas de degeneração epitelial difusa!
- SNC: M.D.M.:

Conferido e Analisado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Salvoani - CRM-SP 24878





RE: 272961 Paciente: 1000 X MACHO
29/03/2012

Proprietário: ---
Convênio: PACTI
Médico: ANA PAULA MOREIRA

Data: 18/12/2012
Idade:

HEMOGRAMA SÉRICO

VALORES DE REFERÊNCIA

HEMOGRAMA	ATENÇÃO: VALORES DE REFERÊNCIA
Hemácias:	6,4 x10 ⁶ /µL
Hematócrito:	44 %
Hemoglobina:	14,7 g/dL
HbA1c:	5,8 %
CHCM:	33,41 %
PLAQUETAS TOTAIS:	6,2 g/dL
LEUCÓCITOS:	19800 /µL
Neutrófilos:	0
Linfócitos:	0
Monócitos:	0
Bastonetes:	0
Eosinófilos:	14
Basófilos:	83
Plaquetas:	8964
Leucócitos:	7
Eosinófilos:	108
Basófilos:	0

PLAQUETAS:

NOVA DORO DE NOTA

COMENTÁRIOS:

ANISOCITOSE DE HEMÁCIAS (+) - POLICROMIA (+) -

ANÁLISE:

SANGUE TOTAL EM EDTA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo responsável: Luciana Langrafte - CRM-SP 12821

RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERÊNCIA NÃO

Condições: 0,60 mg/dL DISFONOVES PARA ESTA ESPÉCIE

Observações: PLÁSMIA COM EDTA

Método:

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo responsável: Kátia Riccardi - CRM-SP 24236

RESULTADO DE EXAME BIQUÍMICO-CHEM VALORES DE REFERÊNCIA NÃO

Análise (T2): 32 W/L 37°C DISFONOVES PARA ESTA ESPÉCIE

Observações: PLÁSMIA COM EDTA

Método: Clonexon digitalizado

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo responsável: Kátia Riccardi - CRM-SP 24236

RESULTADO DE EXAME MICROSCÓPIO

Exame: Recolido animal em bom estado nutricional, apresentando mucosas paliais e pequena quantidade de secreção firme no tojo do perineal.

Exame Microscópico:

- Hematócrito grave;
- Presença de eritrócitos anucleares em coágulo;
- Congestão e hemorragia pulmonares difusas graves;
- Alças intestinais repletas por ípsica e moderadamente distendidas por água;
- Presença de moderada quantidade de alimento parcialmente triturado em luz;
- diâmetro de estômago hepático moderado e congestão difusa moderada;
- Bexiga pouco repleta por urina amarelada pálida;
- Congestão renal difusa bilateral moderada;
- Congestão hepática difusa moderada;
- Congestão pulmonar moderada com hiperplasia mucopolissacarídica moderada da normalidade, incluindo nevo, pneumonia, esteatose, adenoma e nódulo.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo responsável: Fernanda Lucatelo Salvarani - CRM-SP 24878

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Material: Fragmentos de coração, fígado, rim, testículo e SNC.

Histopatológico:

- Coração: M.A.M.;
- Fígado: hepatite linfoplasmocitária periferica multifocal discreta, congestão difusa moderada, degeneração microcística centrolobulillar discreta dos hepatócitos e atrofia discreta dos hepatócitos com vascularização nuclear multifocal;
- Rim: Congestão difusa moderada e urólise discreta;
- Bexiga: Função de descaimento epitelial discreta;
- SNC: Congestão difusa discreta.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo responsável: Fernanda Lucatelo Salvarani - CRM-SP 24878





RE: 27261 Paciente: 100X 8 MACHO
23/12/2012 12:20:00

Proprietário: ---
Convulso: PMPT
Médico: ANA PAULA VARETTA

Data: 18/12/2012
Idade: ---

HISTÓRICO DA ANÁLISE

VALORES DE REFERÊNCIA

EXAME	VALOR	UNIDADE	REFERÊNCIA
ESITROGENONA	5,9	ng/ml	Atenção! Valores de referência
Hematócrito	44	%	Não disponíveis para esta
Hemoglobina	11,7	g/dL	
HCT	37	%	Esfície Anomal.
CHOL	35,48	mg/dL	
PROTEÍNAS TOTAIS	6,8	g/dL	
LEUCOCITOS	6900	/cmm	
Linfócitos	0	%	
Neutrófilos	0	%	
Monócitos	0	%	
Eosinófilos	11	%	
Basófilos	89	%	
Plaquetas	0	/cmm	
Hemácias	0	/cmm	
Hemoglobina	0	g/dL	

PAQUETE: NÃO DISPONÍVEL
COMENTÁRIOS: NÃO DISPONÍVEL

ANOTAÇÕES: SEMPRE TOTAL EM ESTA PLACA HEMOLISADO ---

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Paulo Henrique Barreto - CRM-SP 15.459

RESULTADO DE EXAME BIOQUÍMICO-CHEM

EXAME	VALOR	UNIDADE	REFERÊNCIA
Creatinina	0,43	mg/dL	Valores de referência não disponíveis para esta espécie
Observações:			PLACA HEMOLISADO ---
			PLACA COM ESTA

MICROSCÓPIO

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Rezuzzi - CRM-SP 24296

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO-ATP

VALORES DE REFERÊNCIA NÃO DISPONÍVEIS PARA ESTA ESPÉCIE

Observações: PLACA HEMOLISADO ---
PLACA COM ESTA
CÂMERA DIGITALIZADA

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Kátia Rezuzzi - CRM-SP 24296

EXAME HISTOPATOLÓGICO

Exame Microscópico: Kátia Rezuzzi - CRM-SP 24296

- Hemácias azuis
- Zona de aderência de coágulo sanguíneo no coração
- Presença de eritrócitos e leucócitos no lúmen
- Áreas arteriais repletas por líquor e moderadamente distendidas por gás
- Presença de moderada quantidade de alimento parcialmente triturado em luz gástrica
- Presença de esteatose hepática moderada e congestão difusa moderada
- Bexiga pouco repleta por urina azuada e palha
- Cordeão renal difuso bilaterar, moderado
- Demais órgãos e tecidos dentro dos padrões morfológicos macroscópicos da espécie, incluindo esôfo, pâncreas, intestinos, adrenais e SNC.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Balavani - CRM-SP 24878

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

Material: Fragmento de coração, fígado, rim, esôfago e SNC.

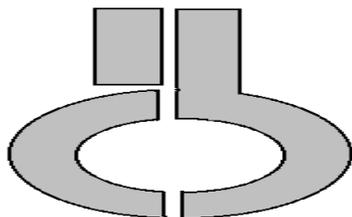
Histopatológico:

- Coração: N.D.N.
- Fígado: Hepatite difusa moderada a severa, com presença de células inflamatórias infiltrando o tecido conectivo e distúrbio da arquitetura lobulillar moderada das hepatócitos e sinusoides difusa dos hepatócitos com vascularização normal
- Intestino: Presença de esteatose hepática moderada e congestão difusa moderada
- Bexiga: N.D.N.
- SNC: N.D.N.

Conferido e Assinado Eletronicamente pelo Responsável: Fernanda Aucélio Balavani - CRM-SP 24878



ANEXO C – Laudo Parasitológico



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Departamento de Imunologia

Biotério de Experimentação

Telefone (011) 3091.7398

Fax (011) 3091.7224

Laudo Viroológico

Identificação

Espécie: Camundongo e Rato

Origem : Biotério IPEN/CNEN

Amostras enviadas – 13 amostras de camundongos e 13 amostras de ratos

Amostras processadas em pool por linhagem. As amostras de Little scid e de BALB/c nude não foram processadas pois estas linhagens não produzem anticorpos necessários à realização do teste de ELISA

Método utilizado

Sorologia utilizando kits de diagnóstico ELISA (Charles Rivers Laboratories, Wilmington, MA)

Resultados

camundongos

Virus	BALB/c	Little	C57BL/6	Swiss	Sentinela BALB	Sentinela C57BL/6
Mouse Hepatitis Virus - MHV	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Mycoplasma pulmonis - MPUL	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Pneumonia Virus of Mice - PVM	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Reovirus Type 3 – REO 3	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ectromelia - ECTRO	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Sendai	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Ratos

Vírus	Pool 1	Pool 2
Toolann's H-1 virus – H-1	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
Kilhan rat virus - KRV	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
Sialodacryoadenitis vírus - SDA	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
Car bacillus CARB	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
Bacilus piliformis CPIL	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
Reovirus Type 3 – REO 3	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
<i>Mycoplasma pulmonis</i> - MPUL	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
<i>Sendai</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>

São Paulo, 7 de março de 2013

Dra. Silvia Maria Gomes Massironi

Biotério de Camundongos

Departamento de Imunologia

ICB/USP

ANEXO D - Aprovação do Comitê de Ética



Parecer - Projeto Nº 73/11 - CEUA-IPEN/SP

Com base nos pareceres apresentados pelos relatores, o protocolo de pesquisa **“Estudos de Toxicidade Aguda e Subaguda do Radiofármaco ^{18}F -FDG”** de responsabilidade do pesquisador **JOÃO ALBERTO OSSO JÚNIOR** foi considerado APROVADO.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados, a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou finais, dependendo da duração do projeto) referentes ao andamento da pesquisa. Após o término da pesquisa, uma cópia do trabalho deve ser encaminhada a este CEUA.

São Paulo, 03 de MARÇO de 2011



Prof. Dra. Nanci do Nascimento
Coordenadora do CEUA-IPEN

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Saha, G. B. **Fundamentals of nuclear pharmacy**. New York: Ed. Springer Science, 2010.
- 2- ARAÚJO, E.B; LAVINAS, T.; COLTURATO, M.T; MENGATTI, J. Garantia da qualidade aplicada á produção de radiofármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 1-12, 2008.
- 3- THRALL, J.H; ZIESSMAN, H.A. **Medicina nuclear**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A., 2001.
- 4- VALLABHAJOSULA, S. **Molecular imaging – Radiopharmaceuticals for pet and spect**. Berlin: Ed. Springer – Verlag, 2009
- 5- MARZIN, D. Preclinical evaluation of radiopharmaceutical toxicological prerequisites. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 25, p. 733-736, 1998
- 6- OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; FERREIRA, D.; COELHO, P.; VEIGA, F. Preparações radiofarmacêuticas e suas aplicações. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas**. Vol. 42, n. 2, abr./jun., 2006.
- 7- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Boas Práticas de Fabricação de Radiofármacos e Medicamentos**. Brasil, Dez. 18, 2009. (RDC 63)
- 8- VANBROCKLIN, H. F.; Radiopharmaceuticals for drug development: United States regulatory perspective. **Betham Science Publishers – Current radiopharmaceuticals**, v.1, n.1, p.1-5, 2008.
- 9- SITE 1: SOCIEDADE BRASILEIRA DE CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO. Tecnologia nacional de produção de radiofármacos. Disponível em: http://www.sbcc.com.br/revistas_pdfs/ed%2045/30.IPEN.pdf. Acessado em: 03/10/2012.
- 10- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Registro de Radiofármacos**. Brasil, Dez. 18, 2009. (RDC 64)
- 11- IPEN-CNEN/SP – CENTRO DE RADIOFÁRMACIA (CR). **Procedimentos Operacionais - Desenvolvimento de novos radiofármacos**. Fev. 2010.

12- OGA, S; CAMARGO, M.M.A; BATISTUZZO, J.A.O. **Fundamentos de toxicologia**. 3ª ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2008.

13- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para a condução de estudos não clínicos de segurança necessários para desenvolvimento de medicamentos**. Brasil, Mar. 01, 2010.

14- SITE 2: INVITARE PESQUISA CLÍNICA. Manual de Boas Práticas Clínicas. Disponível em: http://www.invitare.com.br/portal/index.php?option=com_content&task=view&id=38&Itemid=12. Acessado em 05/10/212.

15- SITE 3: INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES. Centro de radiofarmácia, a história da produção de radiofármacos no IPEN. Disponível em: <https://www.ipen.br/sitio/?idm=113>. Acessado em 05/10/2012.

16- WELCH, M.J; REDVANLY, C.S. **Handbook of radiopharmaceuticals**. England: John Wiley & Sons, Ltd, 2003.

17- VARAGNOLO, L.; STOKKEL, P.M.; MAZZI, U.; PAUWELS, K.J. ¹⁸F-Labeled radiopharmaceuticals for PET in oncology, excluding FDG. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 27, p. 103-112, 2000.

18- CONTI, P.S; LILIEN, D.L; HAWLEY, K.; KEPLER, J.; GRAFTON, S.T; BADING, J.R. PET and ¹⁸F-FDG in oncology: *A clinical update*. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 23, p. 717-735, 1996.

19- FLETCHER, J.W.; DJULBEGOVIC, B.; SOARES, H.P.; SIEGEL, B.A.; LYMAN, G.H.; COLEMAN, E.R.; WAHL, R.; PASCHOLD, J.C. Recommendations on the use of ¹⁸F-FDG PET oncology. **The Journal of Nuclear Medicine**, v. 49, n.3, p.480-508, 2008.

20- COENEN, H.H.; ELSINGA, P.H.; IWATA, R.; KILBOURN, M.R.; PILLAI, M.R.A.; RAJAN, M.G.R.; WAGNER, H.N.; ZAKNUN, J.J.; Fluorine-18 radiopharmaceuticals beyond [¹⁸F]FDG for use in oncology and neurociences. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 37, p. 727-740, 2010.

21- BARBOZA, M.F.; SCIANI, V.; HERRERIAS, R.; SUMIYA, L.C.;BRUZINGA, W.; GOES, M.M.; BAMBALAS, E.; MARIALVA NETO, A.A.; SOUZA, A.A.; PIRES, J.A; MATSUDA, H.; MENGATTI, J. and DA SILVA, C.P.G. Syntesis and quality control of ¹⁸F-FDG at IPEN/CNEN/SP. In: **INTERNATIONAL NUCLEAR ATLANTIC CONFERENCE – INAC**, 28 de agosto á 2 de setembro, 2005, Santos, Brasil.

22- SITE 4: CENTRO REGIONAL DE CIÊNCIAS NUCLEARES. Radiofarmácia FDG, síntese do ¹⁸F-FDG. Disponível em: http://www.crcn.gov.br/siteCRCN/crcn_fdg.html. Acessado em 27/05/2013.

23- SITE 5: INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES. Centro de radiofarmácia, bula do radiofármaco ^{18}F -FDG. Disponível em: <https://www.ipen.br/conteudo/upload/201012100904160.BULA%20FDG%20IPEN.pdf> – Bula ^{18}F - FDG. Acessado em 10/10/2012

24- SOM P; ATKINS H.L.; BANDOYPADHYAY D; FOWLER J.S; MACGREGOR, R.R; MATSUI, K; OSTER, Z.H; SACKER, D.F; SHIUE, C.Y; TURNER, H; WAN, C.N; WOLF, A.P; ZABINSKI, S.V. A fluorinated glucose analog, 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (F-18): nontoxic tracer for rapid tumor detection. *Nuclear Medicine and Biology*, v. 21, p.670-675, 1980.

25- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. Guidance for Industry: **Single dose acute toxicity testing for pharmaceuticals**. Center for Drug Evaluation and Research (CDER)/FDA. USA, August 1996.

26- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. Guidance for Industry: **ICH S6 - Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals**. Center for Drug Evaluation and Research (CDER)/FDA. USA, July 1997.

27- WATERHOUSE, R.N; STABIN, M.G; PAGE, J.G. Preclinical acute toxicity studies and rodent – based dosimetry estimates of the novel sigma-1 receptor radiotracer ^{18}F FPS. *Nuclear Medicine and Biology*, v. 30, p. 555-563, 2003.

28- THE ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT - OECD 423. **Guidance document on acute oral toxicity - acute toxic class method**. December, 2001

29- FISH, R.E.; DANNEMAN, P.J.; BROWN, M.; KARAS, A. **Anesthesia and analgesia in laboratory animals**. London: Elsevier Inc., 2008.

30- CONLEE, K. M.; STEPHENS, M.L.; ROWAN, A.N.; KING, L.A. Carbon dioxide for eutanásia: concerns regarding pain and distress, with special reference to mice and rats. Review article. 2004

31- INTERNATIONAL STANDARD. **Biological evaluation of medical devices – Part 11: test for systemic toxicity**, Second Edition. Ago.15, 2006. (ISO 10993-11).

32- EUROPEAN MEDICINES AGENCY - EMEA. **Guideline on repeated dose toxicity**. London, December, 2007.

33- COLLINS, A.R.; OSOZ, A.A.; BRUNBORG, G.; GAIVÃO, I.; GIOVANELLI, L.; KRUSZEWSKI, M.; SMITH, C.C.; STETINA, R. Review: The comet assay: topical issues. *Mutageneses*, v. 23, n.3, p. 143-151, 2008.

34- ARAÚJO, M.M.; MARIN-HUACHACA, N.S.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCEE, H.; VILLAVIVENCIO, A.L.C.H. Identification of irradiated refrigerated pork with

the DNA comet assay. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 71, p. 183-185, 2004.

35- MONEEF, M.AL.; SHERWOOD, B.T.; BOWMAN, K.J.; KOCKELBERGH, R.C.; SYMONDS, R.P.; STEWARD, W.P.; MELLON, J.K.; JONES, G.D.D. Measurements using the alkaline comet assay predict bladder cancer cell radiosensitivity. *British Journal of Cancer*, v.89, p. 2271-2276, 2003.

36- DI GIORGIO, M.; TAJA, M.R.; NASAZZI, N.B.; BUSTOS, N.; CAVALIERI, H. BOLGIANI, A. Localized irradiations, evaluation through "Comet Assay". PI 4/00 Autoridad Regulatoria Nuclear Argentina. Japón: **10th International Congresso of the International Radiation Protection Association – I RPA**, 2000.

37- SINGH,N.P.; MCCOY, M.T.; TICE, R.R.; SCHNEIDER, E.L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research* v.175: p.184-91, 1988.

38- SITE 6: UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. Escola de Veterinária e Zootecnia, roteiro de necropsia e colheita de material para laboratório. Disponível em: [www.vet.ufg.br/uploads/66/original Roteiro Necropsia Colheita.pdf](http://www.vet.ufg.br/uploads/66/original_Roteiro_Necropsia_Colheita.pdf). Acessado em 26/04/2013.

39- SITE 7: MEDICINANET. Bula do Thiopentax. Disponível em: <http://www.medicinanet.com.br/bula/5034/thiopentax.html>. Acessado em 07/05/2013.

40- DOYLE, R.L.; MONTEIRO, S.G.; GRAÇA, D.L.; SANTURIO, J.M. Avaliação helmintológica de camundongos criados em biotério experimental. *Revista FZVA Uruguiana*, v.13, n.2, p.108-115, 2006.

41- SITE 8: THE NATIONAL ACADEMIES PRESS OPENBOOK. Infectious diseases of mice and rats, Institute of laboratory animal resources. Disponível em: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=1429&page=156. Acessado em 13/05/2013.

42- BRANCO, A.C.S.C.; DINIZ, M.F.F.M.; ALMEIDA, R.N.; SANTOS, H.B.; OLIVEIRA, K.M.; RAMALHO, J.A.; DANTAS, J.G. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos wistar e camundongos swiss do biotério Prof. Thomas George. *Revista Brasileira de Ciência e Saúde*, v.15, n.2, p. 209-214, 2011.

43- CARVALHO, G.D.; MASSENO, A.P.B.; ZANINI, S.M.; PORFIRIO, L.C.; MACHADO, J.P.; MAUAD, H. Avaliação Clínica de ratos de laboratório (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar): parâmetros sanitários, biológicos e fisiológicos. *Revista Ceres*, v.56, n. 1, p. 51-57, 2009.

44- ORLANDINI, Lorena F. **Avaliação de parâmetros bioquímicos e hematológicos em ratos wistar expostos á amônia por inalação**. 2012. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- 45- SPINELLI, M.O.; GODOY, C.M.S.C.; MOTTA, M.C.; CRUZ, R.J.; JUNQUEIRA, M.S.; BORTOLATTO, J. Perfil bioquímico dos animais de laboratório do biotério da faculdade de medicina da USP. **Resbcal, São Paulo**, v.1, n.1, p.76-81, 2012.
- 46- BOEHM, O.; ZUR, B.; KOCH, A.; TRAN, N.; FREYENHAGEN, R.; HARTMANN, M.; ZACHAROWISK, K. Clinical chemistry reference database and for wistars rats and C57/BL6 mice. **Biol. Chem.** V.388, p. 547-554, 2007.
- 47- SANTOS, M.R.V.; SOUZA, V.H.; MENEZES, I.A.C.; BITENCURT, J.L.; RESENDE-NETO, J.M.; BARRETO, A.S.; CUNHA, F.A.; MARÇAL, R.M.; SILVA, F.T.; QUINTANS-JR, L.J; BARBOSA, A.P.O.; Parâmetros Bioquímicos, fisiológicos e morfológicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) produzidos pelo biotério central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena**, v. 6, n.10, p. 1-6, 2010.
- 48- JONES, S.C.; ALAVI, A.; CHRISTMAN, D.; MONTANEZ, I.; WOLF, A.P.; REIVICH, M. The radiation dosimetry of 2-[F-18] fluoro-2-deoxy-d-glucose in man. **The Journal of Nuclear Medicine**, v.23, p. 613-617, 1982.
- 49- REIVICH, M.; KUHL, D.; WOLF, A.; GREENBERG, J.; PHELPS, M.; IDO, T.; CASELLA, V.; FOWLER, J.; HOFFMAN, E.; ALAVI, A.; SOM, P.; SOKOLOFF, L. The ¹⁸F fluorodeoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization in man. **Circulation Research** 44: p. 127-137, 1979.
- 50- GALLAGHER, B.M.; FOWLER, J.S.; GUTTERSON, N.I.; MACGREGOR, R.R.; WAN, C.; WOLF, A.P. Metabolic trapping as a principle of radiopharmaceutical design: Some factors responsible for the biodistribution of ¹⁸F 2-deoxy-2-fluoro-d-glucose. **The Journal of Nuclear Medicine**, v.19, p. 1154-1161, 1978.
- 51- SITE 9: CENTRO DE BIOTERISMO DA FACULDADE DE MEDICINA DE SÃO PAULO. Características Ratos Wistars. Disponível em: http://www.biot.fm.usp.br/index.php?mpg=03.00.00&tip=RATO&id_ani=17&caract=sim.. Acessado 30/05/2013.
- 52- SITE 10: SCIELO BOOKS. Animais de laboratório, criação e manejo de ratos FIOCRUZ. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/sfwtj/pdf/andrade-9788575413869-17.pdf>. Acessado 30/05/2013.
- 53- SITE 11: BIOTÉRIO CENTRAL DA UNIFENAS. Características ratos neonatai. Disponível em: <http://www.unifenas.br/pesquisa/bioterio/animais.asp>. Acessado em 31/05/2013.
- 54- SILVA, L., LIMA, D., NASCIMENTO, C., LIMA, R., FARIAS, G.. Efeitos da farinha de algaroba (*Prosopis juliflora*) durante as fases de gestação e lactação em ratas Wistar. **Acta Scientiarum. Biological Science**, v.25, n. 02, p. 459-465, 2003.

