

## **BIODISTRIBUSI $^{99m}\text{Tc}$ -HUMAN SERUM ALBUMIN-NANOSFER PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus*) SEBAGAI RADIOFARMAKA UNTUK LIMFOSINTIGRAFI**

Rizky Juwita Sugiharti, Iim Halimah, Eva Maria Widyasari, Prina Puspa Kania

Pusat Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri – BATAN, Jl. Tamansari 71, Bandung, 40132  
e-mail : wita@batan-bdg.go.id

### **ABSTRAK**

**BIODISTRIBUSI  $^{99m}\text{Tc}$ -HUMAN SERUM ALBUMIN-NANOSFER PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus*) SEBAGAI RADIOFARMAKA UNTUK LIMFOSINTIGRAFI.** Human Serum Albumin–Nanosfer bertanda teknesium 99m ( $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer) merupakan radiofarmaka yang akan digunakan dalam pencitraan dengan metode limfosintigrafi. Limfosintigrafi adalah metode dalam kedokteran nuklir yang digunakan untuk menelusuri saluran limfatik dan mengenali sentinel lymph node. Biodistribusi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA-nanosfer dilakukan untuk mengetahui akumulasi radiofarmaka ini di kelenjar limfe mesentrik. Sediaan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA-nanosfer diinjeksikan sebanyak 20 $\mu\text{L}$  secara sub dermal pada mencit normal dan mencit yang diinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil dari penelitian ini memperlihatkan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA-nanosfer terakumulasi di kelenjar limfe mesentrik sebesar > 1% ID/g pada mencit normal, 4,41% ID/g pada mencit terinfeksi dan 18,44% ID/g pada mencit dengan kondisi infeksi yang lebih parah.

**Kata kunci :** limfosintigrafi,  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer, kelenjar limfe

### **ABSTRACT**

**BIODISTRIBUTION OF  $^{99m}\text{Tc}$ -HUMAN SERUM ALBUMIN-NANOSPHERE IN MICE (*Mus musculus*) AS RADIOPHARMACEUTICAL FOR LYMPHOSCINTIGRAPHY.** Technetium-99m labeled Human Serum Albumin Nanosphere ( $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosphere) is used as imaging in lymphoscintigraphy technique for tracing lymphatic system and identify the sentinel lymph node. Biodistribution study of  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosphere was conducted to identify the accumulation of this agent in targeted organ (mesenteric lymph node).  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA-nanosfer 20 $\mu\text{L}$  was injected via sub dermal route to normal and infected mice by *Staphylococcus aureus*. The result showed that  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosphere was accumulated in mesenteric lymph nodes about > 1% ID/ g in normal mice, 4.41% (ID/g) in infected mice and 18.44% (ID/g) in severe infected mice

**Key words :** lymphoscintigraphy,  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA-nanosphere, lymph node

### **1. PENDAHULUAN**

Limfosintigrafi adalah metode untuk menelusuri saluran limfe dengan menginjeksikan suatu radiofarmaka yang mengandung nano koloid secara subkutan atau intrakutan yang kemudian akan memberikan hasil pencitraan berupa *scintigram* dari sistem limfatik. Sistem limfatik memproduksi limfosit dan monosit di kelenjar limfe (kelenjar getah

bening) yang berperan dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri. Apabila terjadi infeksi pada tubuh seseorang maka kelenjar limfe akan membesar dan menjadi lunak (*tender*) [1,2]. Limfosintigrafi berguna untuk mengidentifikasi kelenjar limfe pertama yang mendapatkan saluran getah bening (*lymph*) dari tumor atau kanker. Kelenjar limfe ini dikenal sebagai *sentinel node* [1,3]. Teknik limfosintigrafi juga berguna untuk

merencanakan *biopsy* atau pembedahan yang akan membantu seorang praktisi medis untuk menentukan stadium kanker dan memutuskan rencana pengobatan dengan mengidentifikasi titik-titik sumbatan pada sistem limfatik [1], dan mengevaluasi *lymphedema*, yaitu suatu kondisi dimana sumbatan pada sistem limfatik menyebabkan cairan getah bening terakumulasi di jaringan lunak sehingga menyebabkan perbesaran pada lengan atau kaki penderita [4].

Meningkatnya pemanfaatan teknik limfosintigrafi dalam mengidentifikasi *sentinel node* untuk deteksi dini tumor dan kanker payudara, akhir-akhir ini telah banyak menarik minat para peneliti untuk meneliti radiofarmaka-radiofarmaka baru untuk limfosintigrafi [5]. Pada kasus kanker payudara, teknik limfosintigrafi sangat bermanfaat untuk mengetahui kecenderungan kanker payudara yang terjadi dapat berpotensi bermetastasis (menyebarkan ke organ lain) dengan ada atau tiadanya akumulasi radiofarmaka di *sentinel node*. Hal ini sangat membantu praktisi medis dalam menentukan langkah pengobatan selanjutnya sehingga dapat diputuskan tindakan pembedahan atau terapi [6].

Radiofarmaka berbentuk koloid yang digunakan untuk prosedur limfosintigrafi telah banyak dilaporkan [5,7] diantaranya adalah  $^{99m}\text{Tc}$ -sulfur koloid,  $^{99m}\text{Tc}$ -Human Serum Albumin,  $^{99m}\text{Tc}$ -liposome,  $^{99m}\text{Tc}$ -antimony trisulfide colloid. Penelitian terbaru melaporkan radiofarmaka seperti  $^{99m}\text{Tc}$ -dextran dan  $^{99m}\text{Tc}$ -mannosyl-neoglycoalbumin juga dapat digunakan untuk limfosintigrafi [8-11].

Keberhasilan teknik limfosintigrafi sangat bergantung pada keadaan fisik dari partikel radiofarmaka yang disuntikkan. Keadaan fisik ini meliputi ukuran, bentuk dan jumlah partikel yang dikandung oleh radiofarmaka tersebut. Radiofarmaka dengan ukuran partikel yang kecil akan cepat masuk di saluran limfe akan tetapi memiliki waktu retensinya pendek karena radiofarmaka tersebut akan cepat dialirkan oleh getah bening. Partikel dengan ukuran yang besar menyebabkan sebagian dari partikel ini akan tertahan di daerah penyuntikkan dan memberikan rasa tidak nyaman pada pasien, karena waktu yang dibutuhkan untuk limfosintigrafi sangat lama [7,12]. Untuk memecahkan masalah ini, maka di PTNBR dikembangkan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer untuk teknik limfosintigrafi dengan ukuran partikel yang ideal [13]. Biodistribusi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer dipelajari untuk mengetahui akumulasinya di kelenjar limfe. Kelenjar limfe mesentrik (*mesentric*

*node*) dipilih sebagai organ target karena bentuknya yang paling besar dan mudah diidentifikasi dibandingkan dengan kelenjar-kelenjar limfe yang lainnya yang tersebar diseluruh tubuh. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menyajikan data biologis yang sangat berguna bagi para praktisi medis di kedokteran nuklir yang akan memanfaatkan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer sebagai radiofarmaka untuk teknik limfosintigrafi dan selanjutnya diharapkan dapat digunakan untuk mengidentifikasi *sentinel node*.

## 2. TATAKERJA

### 2.1 Bahan dan peralatan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kit radiofarmaka HSA nanosfer buatan PTNBR-BATAN Bandung. Peralatan yang digunakan adalah pencacah saluran tunggal (Ortec) untuk pencacah radioaktivitas, *dose calibrator* (Victoreen), timbangan analitis (Metler-Toledo). Peralatan pendukung yang digunakan adalah *syringe* (Terumo), seperangkat alat bedah, pipet mikro (Eppendorf) dan tabung reaksi.

Sebagai hewan uji dalam penelitian ini digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) dan bakteri untuk menginfeksi hewan uji digunakan *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737)

### 2.2 Penyiapan radiofarmaka $^{99m}\text{Tc}$ -HSA Nanosfer

Kit radiofarmaka HSA-nanosfer buatan PTNBR-BATAN Bandung ditambahkan larutan  $^{99m}\text{Tc}$ -perteknetat sebanyak 2-5 mCi/750-1000  $\mu\text{L}$ , kemudian dikocok dan diinkubasi pada temperatur kamar selama 15 menit. Semua tahap pengerjaan dilakukan secara aseptis.

Kemurnian radiokimia sediaan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA-nanosfer ditentukan dengan metode kromatografi menggunakan kertas Whatman 3 MM/Metanol 95% untuk memisahkan pengotor radiokimia  $^{99m}\text{Tc}$ -perteknetat bebas, Whatman 3 MM/NaCl 0,9% untuk memisahkan pengotor radiokimia  $^{99m}\text{Tc}$ -perteknetat bebas dan Tc-pirofosfat dan Whatman 3 MM/HCl 1N untuk memisahkan pengotor  $^{99m}\text{Tc}$ -tereduksi.

### 2.3 Penyiapan hewan uji

Hewan uji mencit (*Mus musculus*) jantan dengan berat 25-30g disiapkan, dibuat menjadi 3

kelompok yaitu kelompok hewan uji normal, hewan uji yang diinfeksi kelompok I dan hewan uji yang diinfeksi kelompok II masing-masing kelompok berjumlah 3 ekor.

Bakteri *Staphylococcus aerus* dikembang biakkan pada media Nutrien Agar dalam cawan petri yang diinkubasi selama 24 jam, bakteri ini kemudian dibuat suspensi dalam larutan NaCl fisiologis yang mengandung sejumlah  $0,9 \times 10^9$  sel/10 mL. Selanjutnya, suspensi bakteri ini diberikan secara oral pada dua kelompok hewan uji yang diinfeksi. Kelompok I diberikan suspensi bakteri sebanyak 0,1 mL (mengandung bakteri sebanyak  $0,9 \times 10^7$  sel) dan kelompok II diberikan suspensi bakteri sebanyak 0,2 mL (mengandung bakteri sebanyak  $1,8 \times 10^7$  sel). Hewan uji kemudian dipisahkan dari hewan uji kelompok normal dan dibiarkan selama 24 jam untuk digunakan pada uji biodistribusi dihari berikutnya.

#### 2.4 Uji biodistribusi sediaan radiofarmaka $^{99m}\text{Tc}$ -HSA Nanosfer

Sebanyak 20  $\mu\text{L}$   $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer dengan aktivitas 80  $\mu\text{Ci}$  disuntikkan ke masing-masing mencit secara sub dermal. Setelah itu setiap mencit dibedah pada interval waktu 5, 15, 30 dan 60 menit pasca injeksi, kemudian organ-organ diambil termasuk kelenjar limfe mesentrik sebagai organ target. Setiap organ dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal dan dihitung persentase cacahan pada tiap gram organ.

Rumus perhitungan penimbunan per gram organ adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ID} / \text{g} = \frac{\text{cacahan per gram organ}}{\text{cacahan dosis yang diberikan}} \times 100\%$$

(1)

Percobaan diulang sebanyak tiga kali

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil uji kemurnian radiokimia sediaan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosphere memberikan kemurnian radiokimia sebesar >95% dan dapat digunakan untuk melakukan pengujian berikutnya

Hasil uji biodistribusi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer pada hewan uji normal dan hewan uji diinfeksi kelompok I dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Akumulasi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer di kelenjar limfe mesentrik pada hewan uji normal dan hewan uji kelompok I**

Waktu (menit)	(% ID/g) Kelenjar limfe mesentrik (n=3)	
	Hewan uji normal	Hewan Uji Kelompok I
5	1,20 $\pm$ 0,49	4,77 $\pm$ 2,79
15	1,84 $\pm$ 1,82	6,19 $\pm$ 1,54
30	2,75 $\pm$ 2,80	3,47 $\pm$ 2,72
60	1,91 $\pm$ 1,67	0,52 $\pm$ 0,29

Keterangan :

Hewan Uji Kelompok I : Hewan uji diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aerus*  $0,9 \times 10^7$  sel/0,1mL

Nilai simpangan baku dari persentase penimbunan (%ID/g) radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer di kelenjar limfe mesentrik sangat bervariasi dikarenakan faktor hewan coba yang heterogen.

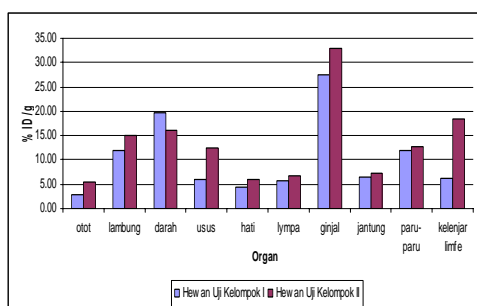
Pada hewan uji normal nilai persentase penimbunan di kelenjar limfe mesentrik berkisar antara 1,20 – 1,91 %ID/g pada waktu 5 menit hingga 1jam, dari hal ini dapat disimpulkan tidak adanya kenaikan signifikan pada persentase penimbunan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer terhadap waktu pada hewan uji normal.

Akan tetapi adanya kenaikan akumulasi dari radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer di kelenjar limfe mesentrik dapat terlihat pada hewan uji kelompok I yang diinfeksi oleh bakteri. Dari hasil pengamatan kelenjar limfe mesentrik dari hewan uji yang diinfeksi dengan bakteri mengalami pembengkakan dan berwarna kuning lebih pekat. Hasil uji biodistribusi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer yang dilakukan pada mencit terinfeksi, memperlihatkan akumulasi tertinggi pada waktu 15 menit pasca injeksi yaitu sebesar 6,19 % ID/g dan kemudian menurun pada 30 menit yaitu sebesar 3,47 % ID/g.

Untuk membuktikan bahwasanya akumulasi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -HSA nanosfer berbanding lurus dengan infeksi yang terjadi maka hewan uji diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan volume bakteri yang dinaikkan dua kali lipat yaitu sebesar  $1,8 \times 10^7$  sel/0,1 mL. Hewan uji kemudian dibedah hanya pada satu waktu yaitu 15 menit dimana waktu akumulasi tertinggi di dapat pada percobaan sebelumnya.

Dari hasil pengamatan kelenjar limfe mesentrik dari hewan uji yang diinfeksi dengan bakteri sebesar  $1,8 \times 10^7$  sel/0,1 mL mengalami

pembengkakan yang lebih besar, berwarna kuning lebih pekat dan sedikit kemerah-merahan. Pembengkakan terjadi juga pada organ-organ lainnya, ini dapat dilihat adanya kenaikan akumulasi %ID/g di organ lain yaitu otot, lambung, darah, usus, hati, limfa, jantung, ginjal dan paru-paru. Hasil percobaan dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Biodistribusi radiofarmaka <sup>99m</sup>Tc-HSA nanosfer pada hewan uji kelompok I (Hewan uji diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aerus* 0,9x10<sup>7</sup> sel/0,1ml) dan kelompok II (Hewan uji diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aerus* 1,8x10<sup>7</sup> sel/0,1ml)**

Dari uji biodistribusi radiofarmaka <sup>99m</sup>Tc-HSA nanosfer pada hewan uji kelompok II, didapatkan bahwa akumulasi radiofarmaka <sup>99m</sup>Tc-HSA nanosfer di kelenjar limfe mesentrik sebesar 18,44% (ID/g) lebih tinggi dibandingkan dengan hewan uji kelompok I sebesar 6,19% (ID/g). Dari percobaan ini diketahui akumulasi penimbunan radiofarmaka <sup>99m</sup>Tc-HSA nanosfer di kelenjar limfe mesentrik berbanding lurus dengan keparahan infeksi yang terjadi.

#### 4. KESIMPULAN

Radiofarmaka <sup>99m</sup>Tc-HSA-nanosfer terakumulasi di kelenjar limfe mesentrik dengan waktu akumulasi tertinggi pada 15 menit pasca injeksi. Dengan adanya akumulasi pada kelenjar limfe mesentrik membuktikan bahwa radiofarmaka <sup>99m</sup>Tc-HSA nanosfer dengan ukuran partikel yang ideal dapat masuk ke saluran limfe sehingga dapat digunakan sebagai radiofarmaka untuk limfosintigrafi. Waktu retensi yang relatif pendek dari radiofarmaka ini diharapkan akan memberikan kenyamanan bagi pasien yang akan menjalani prosedur limfosintigrafi.

#### 5. TERIMA KASIH

Terima kasih yang tulus kami ucapkan kepada Sdr. Iswahyudi, Sdr. Ahmad Sidik, Sdri. Yeti Suryati dan Sdr. Usup Ekaputra dari Bidang Senyawa Bertanda dan Radiometri-PTNBR-BATAN Bandung yang telah membantu kami dengan sepenuh hati untuk menyelesaikan penelitian ini.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

1. SAHA, G. B., Fundamentals of Nuclear Pharmacy, 5<sup>th</sup> ed, Springer, USA (2004) 319-320
2. DILLEHAY, G.L., Nuclear Medicine, 2nd ed, vol 2, Mosby-Elsevier, USA (2006) 1480-1482
3. NIEWEG, O. E., ESTOURGIE, S. H., What is Sentinel Node and What is a False-Negative Sentinel Node?, Ann Surg Oncol 3 (3) (2004) 169-173
4. SCUBA, A., SHIN, W.S., STRAUSS, H.W., ROCKSON, S., The Third Circulation : Radionuclide Limfosintigrafi in The Evaluation of Lymphedema, The Journal of Nuclear Medicine 44 (1) (2003) 43-57
5. PHILLIPS, W.T., ANDREWS, T., LIU, HO-LING., KLIPPER, R., LANDRY, A. J., BLUMHARDT, R., GOINS, B., Evaluation of [<sup>99m</sup>Tc] liposome as lymphoscintigraphic agents: comparison with [<sup>99m</sup>Tc] sulfur colloid and [<sup>99m</sup>Tc] human serum albumin, Nuclear Medicine and Biology, 28 (2001) 435-444
6. KESHTGAR, M.R.S., ELL, P.J., Sentinel lymph node detection and imaging, European Journal of Nuclear Medicine 26 (1) (1999) 57-67
7. WILHELM, A.J., MIJNHOUT, G. S., FRANSSEN, E.J.F., Radiopharmaceuticals in sentinel lymph node detection-an overview, European Journal of Nuclear Medicine, 26 Suppl (1) (1999) S36-S42
8. TAKAGI, K., UEHARA, T., KANEKO, E., NAKAYAMA, M., KOIZUMI, M., ENDO, K., ARANO, Y., <sup>99m</sup>Tc-labeled mannosyl-neoglycoalbumin for sentinel lymph node identification, Nuclear Medicine and Biology, 31 (2004) 893-900
9. MATSUNAGA, K., HARA, K., IMAMURA, T., FUJIOKA, T., TAKATA, J., KARUBE, Y., Technetium labeling of dextran incorporating

- cysteamine as ligand, *Nuclear Medicine and Biology*, 32 (2005) 279-285
10. **VERA, DAVID R., WALLACE, ANNA M., HOH, CARL K.,** [<sup>99m</sup>Tc]MAG<sub>3</sub>-mannosyl-dextran: a receptor-binding radiopharmaceutical for sentinel node detection, *Nuclear Medicine and Biology*, 28 (2001) 493-498
  11. **VERA, D.R., WALLACE, A. M., HOH, C.K., MATTREY, R. F.,** A Synthetic Macromolecule for Sentinel Node Detection : <sup>99m</sup>Tc-DTPA-Mannosyl-Dextran, *The Journal of Nuclear Medicine*, 42 (6) (2001) 951-959
  12. **TSOPELAS C.,** Particle Size Analysis of <sup>99m</sup>Tc-Labeled and Unlabeled Antimony Trisulfide and Rhenium Sulfide Colloids Intended for Lymphoscintigraphic Application, *The Journal of Nuclear Medicine*, 42 (3) (2001) 460-466.
  13. **OEKAR, NANNY KARTINI, WIDYASARI, EVA MARIA.,** Penandaan Human Serum Albumin (HSA)-Nanosfers dengan radionuklida Teknesium-99m, dalam proses publikasi di *Majalah Farmasi Indonesia*, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, (2008).