

PENGARUH KALSIMUM KARBONAT TERHADAP PROFIL FARMAKOKINETIK DARI RADIOFARMAKA ^{99m}Tc -CTMP PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) STOCK Sprague Dawley

Isa Mahendra, Teguh Hafiz AW, Isti Daruwati, Iswahyudi, Ahmad Sidik

Pusat Sains dan Teknologi Nuklir Terapan, Jl. Tamansari No.71, Bandung, 40132
isamahendra@batan.go.id

ABSTRAK

PENGARUH KALSIMUM KARBONAT TERHADAP PROFIL FARMAKOKINETIK DARI RADIOFARMAKA ^{99m}Tc -CTMP PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) STOCK Sprague Dawley. Hipokalsemia merupakan salah satu manifestasi dari metastasis tulang. Salah satu penanganan kasus hipokalsemia adalah dengan pemberian kalsium secara oral yang banyak terdapat pada kalsium karbonat. Penandaan CTMP dengan radionuklida ^{99m}Tc akan membentuk senyawa kompleks bifungsional yang memiliki afinitas terhadap tulang, sehingga dapat digunakan sebagai penyidik tulang. Sebagai penyidik tulang, radiofarmaka ^{99m}Tc -CTMP mempunyai peluang untuk berinteraksi dengan obat yang dikonsumsi penderita, salah satunya adalah kalsium karbonat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kalsium karbonat terhadap profil farmakokinetik dari radiofarmaka ^{99m}Tc -CTMP pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) stock Sprague dawley. Uji farmakokinetik menggunakan dua kelompok hewan coba yang masing-masing terdiri dari tiga ekor, yaitu hewan coba tanpa perlakuan, dan hewan coba yang diberi kalsium karbonat selama 3 hari berturut-turut. Sejumlah hewan coba disiapkan untuk dua kelompok uji, kemudian disuntikkan radiofarmaka ^{99m}Tc -CTMP dengan dosis 100 $\mu\text{Ci}/100 \mu\text{L}$ melalui vena coccygeal. Pada interval waktu 5;15 menit, 1;2;3;24;25 dan 26 jam setelah penyuntikan radiofarmaka ^{99m}Tc -CTMP dilakukan pengambilan darah dari ekor dan dilakukan penimbangan berat darah kemudian dilakukan pencacahan menggunakan SCA (Single Channel Analyzer). Setelah diketahui hasil pencacahan, maka dilakukan penghitungan %ID/g (Injection Dose/ gram) untuk menentukan waktu paro distribusi dan waktu paro eliminasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata waktu paro distribusi pada hewan coba tanpa perlakuan dan hewan coba dengan pemberian kalsium karbonat masing-masing sebesar $0,323 \pm 0,003$ jam dan $0,190 \pm 0,074$ jam . Rata-rata waktu paro eliminasi pada hewan coba tanpa perlakuan dan hewan coba dengan pemberian kalsium karbonat masing-masing sebesar $7,294 \pm 0,319$ jam dan $4,531 \pm 0,539$ jam. Hasil uji T dengan signifikansi 95% menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata pada waktu paro distribusi dan terdapat perbedaan nyata waktu paro eliminasi pada perlakuan pemberian kalsium karbonat dibandingkan kontrol. Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kalsium karbonat berturut-turut akan mempercepat waktu paro eliminasi radiofarmaka ^{99m}Tc -CTMP.

Kata kunci: ^{99m}Tc -CTMP, kalsium karbonat, profil farmakokinetik

ABSTRACT

THE EFFECT OF CALCIUM CARBONATE ON THE PHARMACOKINETIC PROFILE OF ^{99m}Tc -CTMP RADIOPHARMACEUTICAL IN RATS (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley STOCK. Hypocalcemia was one of manifestation of bone metastases. One of treatment of hypocalcemia was using oral calcium which was lots of calcium carbonate. Labelling of CTMP with the ^{99m}Tc radionuclide would form a complex of bifunctional compound which had an affinity for bone so it could be used as bone tracer. As bone tracer, ^{99m}Tc -CTMP radiopharmaceutical had opportunity to interact with drugs which consumed by patient, such as calcium carbonate. This aims to determine the effect of calcium carbonate on the phamacokinetic profile of ^{99m}Tc -CTMP radiopharmaceutical in rats (*Rattus norvegicus*) Sprague dawley stock. The pharmacokinetic test used two groups, each groups consist three tail of rats, experimental animals without treatment, and experimental animals which given calcium carbonate for 3 days. Experimental animals were prepared in two groups, then ^{99m}Tc -CTMP radiopharmaceutical with dose 100 $\mu\text{Ci}/100 \mu\text{L}$ was

injected through a coccygeal vein. At specific time intervals of 5;15 minutes , 1;2;3;24;25 and 26 hours after injected $^{99m}\text{Tc-CTMP}$, performed blood sampling from tail and blood weighing, then counted using SCA (Single Channel Analyzer). After known the results of count, calculating of %ID/g (injection dose/ gram) to determine distribution half time and elimination half time. The results of this research showed that distribution half time of experimental animals without treatment and experimental animals which given calcium carbonate for 3 days were 0.323 ± 0.003 hours and 0.190 ± 0.074 hours respectively. The elimination half time of experimental animals without treatment and experimental animals which given calcium carbonate for 3 days were 7.294 ± 0.319 hours and 4.531 ± 0.539 hours respectively. The results of T test with 95% significance showed no significant differences of distribution half time and there was significant differences of elimination half time between experimental animals which given calcium carbonate to control. This research showed that giving calcium carbonate for 3 days would accelerate elimination half time of $^{99m}\text{Tc-CTMP}$ radiopharmaceutical.

Keywords: $^{99m}\text{Tc-CTMP}$, calcium carbonate, pharmacokinetic profile

1. PENDAHULUAN

Teknik kedokteran nuklir merupakan suatu teknik runut yang menggunakan sediaan radiofarmasi dengan metode pencitraan dimana suatu radiofarmaka dimasukkan ke dalam tubuh dan mengalami proses penyebaran [1]. Radiofarmaka digunakan untuk dua tujuan, pertama yaitu sebagai senyawa untuk mengamati perubahan fisiologi maupun distribusi abnormal ke seluruh tubuh, kedua yaitu sebagai perunut dalam studi biokimia dan fisiologi [2].

Metastasis kanker ke tulang, yang selanjutnya disebut dengan istilah metastasis tulang biasanya dialami oleh penderita kanker tingkat lanjut dan merupakan komplikasi utama pada beberapa kanker seperti kanker prostat, payudara, paru-paru, ginjal dan tiroid, sehingga makin menurunkan kualitas hidup penderita kanker [3]. Beberapa radiofarmaka yang digunakan untuk deteksi dini metastasis kanker ke tulang berbasis senyawa fosfonat yaitu $^{99m}\text{Tc-MDP}$ (medronat), $^{99m}\text{Tc-aminoalkilbifosfonat}$ ($^{99m}\text{Tc-ABP}$), $^{99m}\text{Tc-HEDP}$ (etidronat) dan $^{99m}\text{Tc-CTMP}$ [4,5].

Siklam merupakan senyawa makrosiklik yang banyak digunakan dalam bidang pengobatan. Salah satu senyawa kompleks *cyclam* adalah *1,4,8,11-tetraazacyclo tetradecyl-1,4,8,11-tetramethylene phosphonic acid* (CTMP) yang merupakan senyawa bifungsional karena memiliki empat gugus fosfonat dan empat gugus amin [3]. Gugus amin tersebut merupakan sisi untuk terikat dengan atom Tc sehingga afinitas tetrafosfonat terhadap tulang lebih tinggi karena adanya gugus fosfonat dalam bentuk bebas yang tidak terikat dengan atom Tc. Penandaan CTMP dengan radionuklida ^{99m}Tc akan membentuk suatu senyawa kompleks bifungsional, yang memiliki afinitas terhadap tulang yang lebih baik, dibandingkan senyawa pirofosfat maupun difosfonat [6,7].

Hipokalsemia merupakan suatu manifestasi metastasis tulang dari kanker prostat [8,9]. Salah satu penanganan kasus hipokalsemia adalah pemberian kalsium secara oral dan vitamin D [10]. Kalsium karbonat merupakan salah satu pilihan dalam pemberian kalsium karena memiliki proporsi kalsium terbaik yaitu terdiri atas 40% kalsium. Selain itu, kalsium karbonat juga mudah diabsorpsi [11].

Suatu obat yang diberikan secara bersamaan diketahui akan menimbulkan suatu interaksi. Interaksi ini dapat mengubah kinetika, biodistribusi, maupun efektivitas kerja obat. Radiofarmaka yang digunakan sebagai penyidik maupun obat juga rentan menimbulkan interaksi dengan obat yang diberikan secara bersamaan. Biodistribusi dan farmakokinetik suatu radiofarmaka dapat berubah karena adanya interaksi obat. Selain itu faktor interaksi obat juga menyebabkan gangguan secara menyeluruh, misalnya visualisasi ke organ kritis menjadi buruk sehingga menyebabkan terjadi kesalahan diagnosis [3,11]. Oliviera menjelaskan bahwa banyak obat yang dapat mengganggu biodistribusi dari ^{99m}Tc bertanda senyawa fosfat karena adanya gangguan proses penyerapan fosfat oleh tulang. Studi terbaru oleh Sanders dan Hommeyer telah membuktikan bahwa pemberian obat seperti etidronat, pamidronat, diatrizoat dapat mengganggu penyerapan dari radiofarmaka [2].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kalsium karbonat terhadap profil farmakokinetik radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-CTMP}$ sebagai penyidik tulang pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) stock *Sprague Dawley*.

2. TATAKERJA

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan kalsium karbonat, kit radiofarmaka CTMP buatan PSTNT-BATAN, generator $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Polatom dari Polandia), kertas kromatografi Whatman-3MM, NaCl 0,9% (IPHA), aseton (E Merck), akuabides (IPHA).

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik (Mettler Toledo), oven (Memmert), *vortex mixer* (Retch), *rats strainer*, alat pencacah- γ saluran tunggal (Ortec), *dose calibrator* (Victoreen), gunting bedah, seperangkat alat kromatografi kertas, *syringe* (Terumo), dan kertas pH Universal (Merck).

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) stock *Sprague dawley* dengan berat 200-250 gram sebanyak 6 ekor yang dipelihara di PSTNT-BATAN. Seluruh pengujian telah mendapatkan persetujuan etik nomor 003/KEPPHP-BATAN/IV/2015.

2.2. Metodologi

2.2.1. Penyiapan radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP dan uji kualitas

Semua tahap dilakukan secara aseptis. Sebanyak 0,5 mL larutan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ dengan radioaktivitas 1,5 mCi dimasukkan ke dalam vial yang berisi CTMP yang telah berada di wadah Pb. Larutan dikocok sempurna dan diinkubasi sehingga dihasilkan produk radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP [7].

Kemurnian radiokimia $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP ditentukan menggunakan metode kromatografi kertas. Sistem kromatografi menggunakan fase diam kertas Whatman-3MM dan fase gerak aseton digunakan untuk memisahkan pengotor radiokimia $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertektenat bebas, sedangkan sistem kromatografi menggunakan fase diam kertas Whatmann-3MM dan fase gerak NaCl untuk memisahkan pengotor $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tereduksi [4].

2.2.2. Uji farmakokinetik

Uji farmakokinetik menggunakan dua kelompok uji yang masing-masing terdiri dari tiga ekor. Kelompok pertama adalah hewan coba tanpa perlakuan yaitu hewan coba yang hanya diberikan radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP secara intra vena. Kelompok kedua adalah hewan coba yang diberi kalsium karbonat dengan dosis 10 mg/kgBB/hari diberikan secara per oral selama 3 hari berturut-turut, dan 3 jam pasca pemberian kalsium karbonat pada hari ketiga diberikan radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP secara intra vena.

Sebanyak 0,1 mL $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP dengan radioaktivitas $\pm 100 \mu\text{Ci}$ disuntikkan ke masing-

masing tikus pada tiap kelompok melalui *vena coccygeal*. Cuplikan darah dari masing-masing kelompok tikus diambil melalui *vena coccygeal* dengan selang waktu 5; 15 menit; 1; 2; 3; 24; 25; dan 26 jam setelah penyuntikan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP.

Radioaktivitas dari cuplikan darah diukur menggunakan pencacah- γ saluran tunggal. Hasil pengukuran dinyatakan sebagai presentase radioaktivitas per gram darah (%ID/g). Rumus perhitungan persentase radioaktivitas per gram darah adalah sebagai berikut:

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

Persentase radioaktivitas dalam darah terhadap waktu digambarkan dalam bentuk grafik dan kemudian ditentukan waktu paro biologis $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP menggunakan *software* multifit. Waktu paro biologis $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP dibandingkan dengan uji T menggunakan *software IBM SPSS Statistics 22*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP yang disiapkan memiliki pH 5-6 dan kemurnian radiokimia sebesar $93,54 \pm 0,68 \%$. Berdasarkan hasil penentuan kemurnian radiokimia yang diperoleh yaitu diatas 90%, maka radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP dapat digunakan untuk melakukan uji profil farmakokinetik [4].

Tabel 1. Tabel persentase kemurnian radiokimia $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP (n=3)

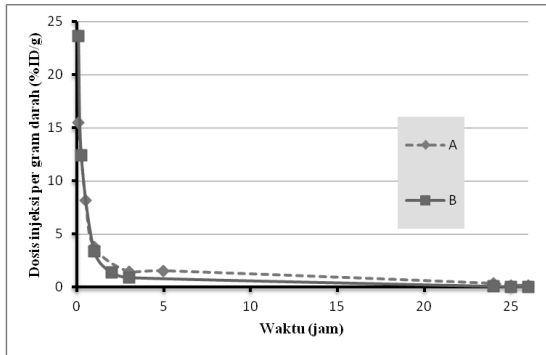
Pengotor radiokimia (%)		$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP (%)
TcO_2	TcO_4^-	
$6,23 \pm 0,85$	$0,23 \pm 0,19$	$93,54 \pm 0,68$

Pengujian profil farmakokinetik darah bertujuan untuk mengetahui perubahan profil farmakokinetik dan waktu paro biologis radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP pada hewan coba setelah dilakukan pemberian kalsium karbonat. Dari hasil pengujian profil farmakokinetik radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP terlihat pada Gambar 1 dan 2 menunjukkan bahwa pemberian kalsium karbonat pada hewan coba mempengaruhi profil farmakokinetik radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP.

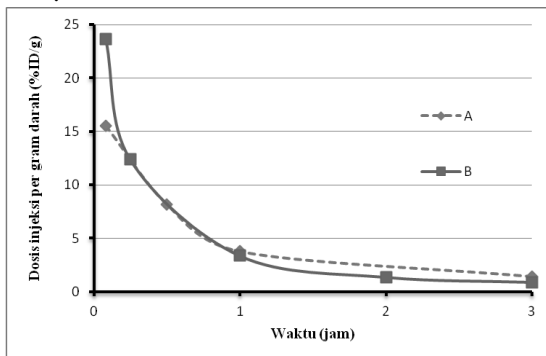
Pada profil farmakokinetik hewan coba tanpa perlakuan, persentase radioaktivitas maksimal radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CTMP dalam darah sebesar 15,5% ditemukan 5 menit setelah penyuntikan intra vena, dan menurun hingga 0,33% dalam waktu 24 jam setelah penyuntikan secara intra

vena. Pada profil farmakokinetik hewan coba yang telah diberi kalsium karbonat selama 3 hari, persentase radioaktivitas maksimal radiofarmaka ^{99m}Tc -CTMP dalam darah sebesar 23,64% ditemukan 5 menit setelah penyuntikan secara intra vena, dan menurun hingga 0,07% dalam waktu 24 jam setelah penyuntikan intra vena.

Perubahan profil farmakokinetik pada hewan coba dengan pemberian kalsium karbonat yang dibandingkan dengan hewan coba tanpa perlakuan dapat disebabkan karena kalsium mempengaruhi sifat aviditas *extraosseous* dari senyawa fosfonat. Faktor yang mempengaruhi reaktivitas difosfonat terhadap deposisi kalsium ditentukan oleh rasio molar dari kalsium, luas permukaan kristal, dan kehadiran ion logam lainnya [13].



Gambar 1. Profil farmakokinetik ^{99m}Tc -CTMP pada (A) tikus tanpa perlakuan (B) tikus dengan pemberian kalsium karbonat



Gambar 2. Grafik hasil pemotongan profil farmakokinetik ^{99m}Tc -CTMP hingga 3 jam pada (A) tikus tanpa perlakuan (B) tikus dengan pemberian kalsium karbonat

Dari hasil perhitungan %ID/gram diperoleh data waktu paro yang terdapat pada Tabel 2. Waktu paro distribusi pada kelompok hewan coba tanpa perlakuan dan hewan coba dengan pemberian

kalsium karbonat masing-masing sebesar $0,323 \pm 0,003$ dan $0,190 \pm 0,074$ jam. Waktu paro eliminasi pada kelompok hewan coba tanpa perlakuan dan hewan coba dengan pemberian kalsium karbonat masing-masing sebesar $7,294 \pm 0,319$ dan $4,531 \pm 0,539$ jam.

Hasil uji T dengan signifikansi 95% menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata pada waktu paro distribusi dan terdapat perbedaan nyata waktu paro eliminasi pada perlakuan pemberian kalsium karbonat dibandingkan kontrol. Hal ini terlihat dari penurunan kadar radiofarmaka ^{99m}Tc -CTMP dalam darah setelah 24 jam pada hewan coba yang telah diberikan perlakuan kalsium karbonat selama 3 hari yaitu sebesar 0,07% yang lebih kecil dari hewan coba normal sebesar 0,33%.

Tabel 2. Waktu paro radiofarmaka ^{99m}Tc -CTMP

Kelompok hewan coba	Tanpa perlakuan	Pemberian kalsium karbonat	Hasil uji T (95%)
$t_{1/2}$ distribusi (jam)	$0,323 \pm 0,003$	$0,190 \pm 0,074$	Tidak berbeda nyata
$t_{1/2}$ eliminasi (jam)	$7,294 \pm 0,319$	$4,531 \pm 0,539$	Berbeda nyata

5. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kalsium karbonat selama 3 hari berturut-turut pada hewan coba dapat mempercepat waktu paro eliminasi radiofarmaka ^{99m}Tc -CTMP.

6. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih penulis ucapkan kepada Sdr. Epy Isabela dan Sdri. Witri Nuraeni yang telah membantu bagi keberhasilan dan kelancaran kegiatan penelitian.

7. DAFTAR PUSTAKA

- SAHA, G.B. Fundamentals of nuclear pharmacy. 6th ed. New York: Springer; 2010. 1-409 p.
- SANTOS-OLIVEIRA, R. Radiopharmaceutical Drug Interactions. Rev Salud Publica (Bogota). 2008;10(3):477-87.

3. LEWINGTON, V.J. Bone-seeking radionuclides for therapy. *J Nucl Med.* 2005;46 Suppl 1(1):38S – 47S.
4. SUGIHARTI, R.J., SUMPENA, Y., dan MISYETTI. Perbandingan pola biodistribusi ^{99m}Tc -CTMP dan ^{99m}Tc -MDP pada hewan uji sebagai radiofarmaka penyidik tulang. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*, X(2)(2009) 89–96.
5. DE MURPHY, C.A., MELENDEZ-ALAFORT, L., E. MONTOYA-MOLINA C., and SEPULVEDA-MENDEZ, J., Radiopharmacokinetic data for ^{99m}Tc -ABP— A new radiopharmaceutical for bone scanning: comparison with ^{99m}Tc -MDP. *Nuclear, Medicine, and Biology* [Internet]. 1997;24(1):27–33. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969805196001515>
6. SETIYOWATI, S., RAMLI, M., dan SUBUR, M., Pembuatan ^{177}Lu -CTMP untuk paliatif nyeri tulang metastasis: peningkatan kemurnian radiokimia ^{177}Lu -CTMP dan uji stabilitasnya. *Seminar Nasional VI SDM Teknologi Nuklir Yogyakarta*, 18 November 2010. Yogyakarta; 2010 Nov;649–54.
7. MISYETTI dan DARUWATI, I., Penandaan CTMP dengan teknesium-99m untuk radiofarmaka penyidik kanker tulang. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*, IX(2008) 79–88.
8. TANDON, P.K. and RIZVI, A.A. Hypocalcemia and parathyroid function in metastatic prostate cancer. *Endocr Pract* [Internet]. American Association of Clinical Endocrinologists; 2005 Jul 1;11(4):254–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.4158/EP.11.4.254>
9. PUSULARI, B.B., AKBAR, R.A., BUTT, M., UL HAQ, S.M., Hypocalcemia with bony metastases in prostate cancer. *J Ayub Med Coll Abbottabad* [Internet]. 2008;20(1):138–9. Available from: <http://www.ayubmed.edu.pk/JAMC/PAST/20-1/Raza.pdf>
10. MUQEET ADNAN, M., BHUTTA U., IIQBAL, T., ABDUL MUJEEB, S., HARAGSIM, L., AMER, S., Severe hypocalcemia due to Denosumab in metastatic prostate cancer. *Case Reports Nephrol* [Internet]. 2014;2014:1–3. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/crin/2014/565393/>
11. FONG, J. dan KHAN, A. Hypocalcemia updates in diagnosis and management for primary care. 2002;324(May):1135–8.
12. LENTLE, B., ATTARIWILA, R., and LYSTER, D., Drug-induced changes in radiopharmaceutical biodistributions. HINKLE, G.H., LAVEN, D.L., NOREMBERG, J.P., PETRY, N.A., and QUINTON, TM, editors. Albuquerque: The University of New Mexico Health Sciences Center College of Pharmacy, Albuquerque, New Mexico; 2007. 1-62 p.
13. PELLER, P.J., HO, V.B., and KRANSDORF, M.J., Extraosseous Tc-99m MDP uptake: a pathophysiologic approach. *Radiographics.*, 13(4)(1993)715–34.