



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA**

**INFLUÊNCIA DA DESNUTRIÇÃO E DA ANEMIA FERROPRIVA NA
MARCAÇÃO DE HEMÁCIAS COM O TECNÉCIO 99m**

SHIUE GUANN JYB

ORIENTADOR: Prof. Dr. Emerson Azevedo de Araújo

**RECIFE-PE
2001**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA**

**INFLUÊNCIA DA DESNUTRIÇÃO E DA ANEMIA FERROPRIVA NA
MARCAÇÃO DE HEMÁCIAS COM O TECNÉCIO-99m**

SHIUE GUANN JYB

ORIENTADOR: Prof. Dr. Emerson Azevedo de Araújo

Tese apresentada como parte
dos requisitos para obtenção
do grau de Mestre em
Biofísica e Radiobiologia.

RECIFE-PE
2001

Dedico, aos meus pais, Shiue Lin Shiyng e Shiue Wang Yub Meei (in memmorian), a minha esposa Taciana dos Santos Soares, aos meus irmãos, Guann Jong, Guann Shub, Silvio Guann, Hi Meet e Thiago Guann Lin (inn memmorian).

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me concedido a graça de concluir mais esta etapa na minha vida.

Aos meus Pais, pelo amor e paciência e todos os familiares, pelo apoio a minha vida.

A Taciana, pela especial união, amor, participação e compreensão.

Ao Professor Emerson Araújo pela dedicada orientação, amizade e por toda a paciência.

À Professora Ana Mendonça pela amizade e empenho

Ao Professor Mário Bernado Filho pela sugestão e disponibilidade;

Aos Professores da banca;

À Professora M^a Teresa Janssem pelas sugestões e disponibilidade;

À Professora Julianna F. Cavalcanti de Albuquerque por ter aceito participar desta tese e pelas sugestões;

À Professora Liliya Yuldasheva pelas sugestões e disponibilidade;

Ao Professor Carlos Manoel pelas sugestões e colaboração;

À Professora Silene Carneiro pelas sugestões e disponibilidade;

À Capes, pela contribuição ao desenvolvimento deste país;

À todo, o Departamento de Biofísica e ao Departamento de Nutrição, pela contribuição acadêmica.

E àqueles que apesar de não terem sido citados, sempre lembrarei da pequena parcela de contribuição a conclusão deste estudo.

Professores da banca:

Professora M^a Teresa Jansem

Professora Julianna F. Cavalcanti de Albuquerque

Professora Liliya Yuldasheva

Índice

Resumo	8
Abstract	9
1 Introdução	10
1.1 Anemia	11
1.2 Desnutrição protéico-calórico	23
1.3 Radionuclídeos	31
1.4 Tecnécio-99m	32
1.5 Radiofármaco	33
1.5.1 Marcação de hemácias com ^{99m}Tc	36
2 Objetivos	38
2.1 Objetivo geral	38
2.2 Objetivo específico	38

3	Material e métodos	39
3.1	Animais e dietas	39
3.2	Anemia experimental	39
3.3	Indução a desnutrição protéico-calórica	41
3.4	Marcação de hemácias in vitro	42
4	Resultados	44
4.1	Estudo da influência da anemia ferropriva e da desnutrição protéico calórico na marcação de elementos sanguíneos com Tc-99m	44
5	Conclusão	53
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

Resumo

A anemia e a desnutrição são problemas de saúde pública mais comuns, principalmente nas populações de baixa renda. Podendo afetar o indivíduo em qualquer período de sua vida, sendo o seus efeitos bastante variado, dependendo da fase da vida a qual o mal o está atingindo. O objetivo deste trabalho visa avaliar o efeito da anemia ferropriva e da desnutrição na marcação dos elementos sanguíneos com o tecnécio 99m (^{99m}Tc). Amostras de sangue de ratos Wistar induzidos a anemia ferropriva e a desnutrição protéico-calórica foram colocados com o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e em seguida adicionados a solução de cloreto estanoso e pertecnetato de sódio ao tubo. O plasma e as células sanguíneas foram separadas por centrifugação. Para separarmos também as frações plasmáticas e celulares em frações solúveis e insolúveis adicionamos ácido tricloroacético (TCA) à 5% antes da segunda centrifugação. A porcentagem de atividade (%ATI) foi calculada para cada uma das frações. A análise estatística dos resultados revelou: 1) Queda na marcação das células de células sanguíneas do sangue dos ratos com anemia ferropriva e desnutrição protéico-calórica, porém, com queda mais acentuada nos ratos com anemia ferropriva; 2) Aumento na marcação das proteínas plasmáticas no sangue de ratos com anemia e desnutrição, com aumento maior da marcação nos ratos induzidos a anemia ferropriva; 3) Verificou-se alterações significativas nas amostragens das frações solúveis e insolúveis das células e do plasma.

Portanto a anemia ferropriva e a desnutrição protéico-calórica diminuem a eficiência de marcação de hemácias e aumentam a eficiência de marcação das proteínas plasmáticas in vitro.

Abstract

The anaemia and the malnutrition are problems of more common public health, mainly in the populations of low income. Could affect the individual in any period of his life, being their quite varied effects, depending on the phase on the life the one which the badly is reaching. The objective of this work seeks to evaluate the effect of the iron deficiency anaemia and of the malnutrition in the demarcation of the sanguine elements with Technetium-99m. Samples of blood of rat induced Wistar the iron deficiency anaemia and the protéico-caloric malnutrition were put with the ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) and soon afterwards added the solution of stannous chloride and ^{99m}perchnetate to the tube. The plasma and the sanguine cells were separate for centrifuged. For us to also separate the plasma fractions and cellular in soluble and insoluble fractions we added trichloroacetic acid (TCA) to the 5% before the second centrifuged. The activity percentage (%ATI) it was calculated for each one of the fractions. The statistical analysis of the results revealed: 1) Fall in the demarcation of the cells of sanguine cells of the blood of the rat with iron deficiency anaemia and protéico-caloric malnutrition, however, with fall more accentuated in the rat with iron deficiency anaemia; 2) Increase in the demarcation of the plasma proteins in the blood of rat with anaemia and malnutrition, with larger increase of the demarcation in the induced rat the iron deficiency anaemia; 3) it was Verified significant alterations in the samplings of the soluble and insoluble fractions of the cells and of the plasma.

Therefore the iron deficiency anaemia and the protéico-caloric malnutrition reduce the efficiency of erythrocyte demarcation and they increase the efficiency of demarcation of the plasma proteins in vitro.

1. Introdução

Na medicina nuclear, é freqüente a utilização do tecnécio ^{99m}Tc na marcação de hemácias nos procedimentos de diagnóstico. Devido a alta incidência da anemia ferropriva e da desnutrição protéico-calórica que provoca alterações bioquímicas no sangue supõe-se que isso poderá alterar o diagnóstico das marcações das hemácias com o ^{99m}Tc , podendo dar resultados falso positivos ou falso negativos.

O sangue é um fluido importante que mantém uma comunicação entre as várias estruturas que compõe o organismo vivo. Desempenha diversas funções, como a nutrição celular, o transporte de gases e substâncias, a excreção, manutenção do equilíbrio ácido-básico, regulação da temperatura corporal, regulação da temperatura corporal e defesa contra infecções (Junqueira e Carneiro, 1997). É composto de uma parte sólida, os glóbulos sangüíneos, e de uma parte líquida, o plasma. Os glóbulos sangüíneos são produzidos pelos tecidos hemocitopoéticos, circulam na corrente sangüínea sendo constituído por glóbulos vermelhos (hemácias), glóbulos brancos (leucócitos) e as plaquetas (Beutler, 1994).

O plasma é basicamente uma solução aquosa, translúcida, amarelada e viscosa, contendo muitas substâncias em suspensão. Os sais inorgânicos (0,9%), as proteínas (7%) e diversos compostos orgânicos não protéico constituem 10% do volume plasmático (Junqueira e Carneiro, 1997).

As alterações na morfologia das hemácias podem refletir estados de anormalidades do organismo, por isso é de fundamental importância o conhecimento dessas alterações para que as medidas a serem aplicadas na clínica médica possam ter maior eficácia em relação ao diagnóstico dos pacientes.

1.1 Anemia

Na atualidade, as deficiências de micronutrientes é o problema nutricional de maior prevalência no mundo. (Cook et al, 1994). A deficiência de ferro segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) é um dos problemas de saúde pública mais comuns afetando mais de 2 bilhões de indivíduos, sobretudo gestantes, lactantes e pré-escolares nos países em desenvolvimento (The Micronutrient Initiative, 1995).

Esta situação é devido a um balanço inadequado, secundário a um aporte dietético insuficiente para suprir as demandas fisiológicas (Sichiere, 1987; Tatala et al, 1998).

A anemia ferropriva é caracterizada pela produção de eritrócitos pequenos (microcíticos) e um menor nível de hemoglobina circulante. Esse é realmente o último estágio da deficiência de ferro e representa o ponto final de um longo período de privação do mesmo (Krause, 1995).

Um estudo colaborativo, envolvendo seis países latino-americanos entre eles o Brasil, concluiu que o ferro total disponível nas dietas habituais não atingiu níveis correspondente às necessidades fisiológicas para indivíduos normais (Acosta et al, 1984).

O ferro é o elemento traço mais abundante no organismo animal e humano, é, desde o ponto de vista funcional um constituinte da hemoglobina, mioglobina e diversas enzimas e portanto é considerado um nutriente essencial para o homem (Cook, 1994; Beard, 1996).

O ferro do organismo tem dupla origem: ferro exógeno, ingerido com os alimentos, e ferro endógeno, proveniente da destruição das hemácias, que liberta cerca de 27 mg do metal, que é em seguida reutilizado (Franco, 1992).

O metabolismo do ferro e os fatores que determinam sua deficiência se encontram bem conhecidos. Habitualmente, a deficiência nutricional de ferro se define como um aporte insuficiente do metal para cobrir as necessidades de ferro funcional, uma vez que os dos depósitos se esgotaram (OMS, 1975; DeMayer, 1985).

O ferro orgânico total equivale ao redor de 3,8g no homem e 2,3g na mulher. Os compartimentos dos organismos que contém ferro podem ser divididos em duas categorias: funcional, cumprem funções metabólicas ou enzimáticas e, armazenamento, utilizado para o depósito e transporte do ferro (Carpenter, 1992).

Entre as principais funções dos compostos de ferro, as melhores conhecidas são as relacionadas com o heme: hemoglobina, para o transporte de oxigênio, mioglobina para o armazenamento muscular de oxigênio e citocromos para a produção oxidativa de energia celular em forma de ATP (Borel, 1991).

A hemoglobina é uma metaloproteína, cujo grupo prostético é o radical heme, constitui mais de 65% do ferro no organismo. Compreende a principal proteína intracelular das hemácias, constituindo 33% do seu conteúdo. É composta por quatro cadeias polipeptídicas, cada uma ligando um heme. A parte protéica, denominada de globina, apresenta estruturas diferentes, variando inclusive, de acordo com a faixa etária, enquanto que a estrutura do radical heme é sempre a mesma. Sua função consiste em transportar o oxigênio pela corrente sanguínea desde os pulmões até os demais tecidos. Em caso de anemia moderada, as trocas bioquímicas para melhorar a baixa carga de oxigênio dos tecidos compensam a reduzida capacidade de transporte de oxigênio do sangue. Na anemia grave a importante redução da concentração

de Hb diminui a liberação de oxigênio e pode induzir uma hipoxia tissular crônica (Finch, 1972).

Múltiplos fatores nutricionais são essenciais para uma produção de hemácias normais (Layrisse, 1988). O ferro ocupa uma posição chave no processo de maturação e proliferação das hemácias. A síntese de hemoglobina nos precursores eritrocitários depende da integridade funcional da medula óssea, da severidade e duração da anemia, de uma resposta adequada de eritropoietina e principalmente da disponibilidade de ferro. Esta função requer além de um aporte adequado de ferro, uma produção de porfirina a nível mitocondrial e de cadeias polipeptídicas nos polirribossomos (Yepes e Esteves, 1987).

As hemácias tem uma vida média em geral de 120 dias, após este período elas são metabolizadas. As células do sistema reticuloendotelial situados no baço, removem da circulação e destroem as hemácias senis (Finch, 1972).

A Hb liberada pela célula é fagocitada pelo sistema macrofagomonocítico, principalmente no fígado, baço e medula óssea, recuperando os compostos essenciais da Hb, como aminoácidos e o ferro. O ferro livre pode ser então, armazenado no reservatório de ferritina ou reusado na formação de Hb. A fração porfirínica é convertida pelos macrófagos no pigmento biliar, bilirrubina, liberado no sangue, e finalmente, transportado ao fígado para sua conjugação e excreção (Yepes e Esteves, 1987).

A mioglobina possui estrutura similar às unidades monoméricas da hemoglobina, esta formada por uma cadeia de globina unida a um grupo heme que contém um só átomo de ferro. A concentração de mioglobina no músculo humano é de aproximadamente 5 mg/g de tecido. A principal função da mioglobina consiste em transportar e armazenar o oxigênio e libera-lo para atender ao aumento das necessidades metabólicas que se produz durante a

contração muscular. Esta proteína contém aproximadamente 10% do ferro total do organismo correspondendo no homem adulto entre 150 a 200 mg de ferro (Yepes e Esteves, 1987).

No citocromo o ferro forma parte da estrutura coenzimática de vários sistemas enzimáticos que catalizam eventos metabólicos fundamentais a nível celular (Yepes e Esteves, 1987).

O modelo molecular do citocromo C, o qual apresenta uma porção protéica ligada a uma coenzima hematínica, é um exemplo da participação do ferro nos sistemas enzimáticos (Yepes e Esteves, 1987).

Os citocromos são enzimas que intervêm no transporte de elétrons e se encontram nas mitocôndrias e em outras organelas. Localizam-se nas cristas mitocondriais de todas as células aeróbicas e são essenciais para a produção oxidativa de energia celular em forma de trifosfato de adenosina (ATP) (Dallman, 1965).

A maior parte do ferro de reserva está armazenado sob a forma de ferritina e hemossiderina, localizados no fígado, baço e medula óssea. Uma pequena quantidade pode estar presente em outros tecidos, no soro e nas células sanguíneas. O elemento estrutural comum dessas duas moléculas é a proteína apoferritina. Sua função essencial é a fixação e o armazenamento do ferro corporal (Beard, 1996).

No organismo adulto cerca de 25% a 30% do ferro corporal total se encontra armazenado como ferritina, a depender do balanço entre a absorção intestinal e as perdas corporais (De Angelis e Ctenos, 1993).

O armazenamento e a mobilização do ferro ligado à proteína depende de mecanismos complexos. O efeito do ácido ascórbico, cisteína, glutathion reduzido e a xantina oxidase acoplada a um sistema redox, mobilizam o ferro da ferritina (Benito, 1998).

O ferro só é perdido no organismo por sangramento e muito pouco é excretado via fezes, suor e na descamação normal da pele e cabelos. A maior parte do ferro perdido nas fezes consiste em ferro não absorvido da dieta. O restante vem da bile e da descamação celular do epitélio gastrointestinal. Muito pouco ferro é excretado pela urina.

O homem adulto perde ao redor de 1 mg de ferro diariamente e na mulher, não menstruada, a perda é menor. A perda de ferro que acompanha a menstruação fica ao redor de 0,5 mg/dia. Existem grandes variações entre indivíduos, e perdas menstruais maiores que 1,4 mg/dia ocorrem em cerca de 5% das mulheres normais (Krause, 1995).

As três causas básicas da anemia ferropriva são:

- 1- Perda crônica de sangue, tais como úlcera péptica que sangra, hemorróidas, parasitas ou malignidade;
- 2- Uma absorção ou ingestão deficiente de ferro, resultando de uma dieta pobre neste ou de distúrbios gastrointestinais crônicos, tais como diarreia, acloridria ou doença intestinal;
- 3- Maior requisito de ferro do volume de sangue aumentado, como se observa na infância, adolescência e gravidez.

A evolução da deficiência de ferro é caracterizado por três estágios:

- 1- Depressão das reservas de ferro
- 2- Eritropoese deficiente
- 3- Anemia.

No primeiro estágio, as formas de reserva de ferro (ferritina e hemosiderina) ficam esgotados. A falta posterior de ferro no veículo transportador da proteína do plasma (transferrina) se reflete na medida da capacidade total de ligação de ferro (TIBC). A essa altura, a taxa de absorção das células da mucosa gastrointestinal fica muito estimulada. A depressão das enzimas que contém ferro nos tecidos pode também ocorrer.

Quando o conteúdo de ferro no plasma cai abaixo de 60µg/dl e a saturação percentual de transferrina cai abaixo de 15%, o suprimento de ferro para a medula óssea é inadequado para fazer hemácias (RBC). O nível decrescente de hemoglobina resulta na produção de eritrócitos que são menores (microcíticos) e contém menos hemoglobina (hipocrômicas) (Krause, 1995).

A deficiência de ferro também pode ocorrer na população, quando apresenta hábitos alimentares defeituosos, e na alimentação de crianças, quando o desmame é feito tardiamente. Patologias que podem induzir a uma deficiência de ferro são todas aquelas síndromes afetando a absorção intestinal e, obviamente, a ocorrência de hemorragias recorrentes. Certas condições fisiológicas podem ser consideradas como predisponentes para a ocorrência de deficiência de ferro, entre elas a hemorragia excessiva durante a menstruação, no puerpério, na lactação, nos recém-nascidos e/ou em gêmeos, crianças adolescentes, e no rápido crescimento corpóreo. Alguns pacientes apresentam deficiência de ferro, a despeito de ferro em tecidos não eritróides.

A expressão anemia nutricional tem sido usada para designar as diversas naturezas de anemia que ocorrem em indivíduos cuja dieta seja inadequada em qualidade e quantidade. Mais comumente, deficiência de ferro e proteínas são as responsáveis, porém, em certas áreas geográficas e em certos indivíduos

com dietas inadequadas particularmente as do ácido fólico são proeminentes (Franco, 1992).

As anemias nutricionais podem ser conceituadas como o estado patológico resultante da carência de um ou mais nutrientes essenciais, no qual a concentração da hemoglobina, o valor do hematócrito e o número de hemácias são inferiores ao normal.

As anemias nutricionais podem ser classificadas em :

- Anemia megaloblástica (carência de folatos e de vitamina B₁₂)
- Anemia ferropriva (carência de ferro).

No que diz respeito ao ferro nutricional, a gestação é o período mais crítico da vida de uma mulher. Sanchez-Medal afirma que a deficiência de ferro nas gestantes é um problema de âmbito mundial, mesmo nos países mais industrializados (Krause, 1995).

As anemias nutricionais, como a própria desnutrição, têm no fator ambiental um agente agressor severo, ao qual se associam muitos outros fatores, como os de ordem econômica, sociocultural e geográfica que interagem com a desnutrição e as enfermidades infecciosas e parasitárias (Dutra, 1982).

A anemia ferropriva é um dos distúrbios nutricionais mais freqüentes da infância e é especialmente prevalente entre crianças de 1 e 3 anos de idade.

Existem áreas geográficas onde a incidência de anemia ferropriva na infância é excessivamente elevada. Stott demonstrou que 40% a 60% das crianças com menos de 4 anos de idade, em Mauritius, apresentavam teores de hemoglobina inferiores a 10g, e que em 90% destas crianças a anemia resultava da deficiência de ferro. Dados semelhantes foram encontrados em

crianças filipinas e em pré-escolares negros que viviam em Cape Town (Krause, 1995).

A anemia hipocrômica microcítica é a única manifestação clara de deficiência de ferro, podendo ser dividida em cinco grupos:

- 1- Anemia por um suprimento alimentar deficiente de ferro – anemia nutricional.
- 2- Anemia por inabilidade para formação de hemoglobina na ausência de certos fatores necessários (vitamina B₁₂) – anemia perniciosa.
- 3- Anemia por hemorragias (por supressão eritrocitômica) devido a perda de sangue.
- 4- Presença de fatores que inibem a absorção de ferro, como fitatos, fosfatos, lesões na mucosa que afetam a absorção – anemia por malabsorção.
- 5- Redução da cloridria gástrica necessária à liberação do ferro para absorção – anemia pós-gastrectomia.

Em razão da anemia ser a manifestação final de uma deficiência crônica de ferro de longa duração, os sintomas refletem um mal funcionamento de um certo número de sistemas corpóreos. O funcionamento inadequado dos músculos é refletido em menor desempenho de trabalho e tolerância ao exercício. O envolvimento neurológico se manifesta em mudanças de comportamento – fadiga, anorexia e uma compulsão pela ingestão de substâncias não nutritivas, principalmente pagofagia (ingestão de gelo). A evolução cognitiva anormal nas crianças sugere a presença de deficiência de ferro, antes que ela tenha chegado a ser uma anemia declarada. São comuns

as anormalidades de crescimento, distúrbios epiteliais e redução na acidez gástrica. Um possível sinal de começo de deficiência de ferro é a redução da imunocompetência, especialmente defeitos na imunidade mediada por células e na atividade fagocítica dos neutrófilos, que podem levar a uma maior tendência para a infecção.

À medida que a anemia ferropriva torna-se mais grave, surgem defeitos na estrutura e função dos tecidos epiteliais, principalmente da língua, unhas, boca e estômago. A cor da pele pode parecer pálida, e o lado interno da pálpebra inferior ficará cor-de-rosa em lugar de vermelho. As unhas tornam-se finas e chatas, e, eventualmente, forma-se coiloníqueas (unhas em forma de colher). As mudanças da boca incluem atrofia das papilas da língua, ardor e vermelhidão, e, nos casos graves, a língua fica com uma aparência completamente lisa, cerácea e brilhante (glossite). A estomatite angular pode também se formar, bem como uma forma de disfagia (dificuldade para engolir). A gastrite ocorre freqüentemente e pode resultar em acloridria. Uma anemia progressiva, não tratada, resulta em mudanças cardiovasculares e respiratórios que podem eventualmente resultar em insuficiência cardíaca (Krause, 1995).

Os graus progressivos de deficiência de ferro podem ser calculados por quatro medições diferentes:

- 1- A ferritina do plasma fornece uma medida das reservas de ferro;
- 2- A saturação de transferrina é um padrão do suprimento de ferro para os tecidos. Ela é calculada dividindo-se o ferro do soro pela capacidade total de ligação de ferro (TIBC); os níveis abaixo de 16% são considerados inadequados para a eritropoese;

- 3- A razão entre a protoporfirina do zinco e o heme (ZnPP/heme) é um indicador sensível do suprimento de ferro para as hemácias em formação. Quando um substrato insuficiente de ferro acha-se disponível para incorporar na porfirina, o zinco é, então, substituído. Embora ele possa combinar com a globina e circular, essa molécula contendo zinco não pode fixar o oxigênio;
- 4- Tanto a medida da hemoglobina como a do hematócrito indicam anemia. A maioria dos pacientes apresenta sintomas de anemia, quando a hemoglobina é cerca de 8 a 11 g/dl.

Vários fatores influenciam a biodisponibilidade do ferro dietético. A taxa de absorção depende do estado do ferro no indivíduo, com o qual se reflete no nível de suas reservas. Quanto menores forem as reservas de ferro, maior será a taxa de absorção do mesmo. A absorção é também influenciada pela forma do ferro na dieta. O ferro heme (MFP), existente na carne, peixe, carne de aves, é muito mais absorvido do que o ferro não heme, que também está presente na MFP, bem como em ovos, grãos, vegetais e frutas. A taxa de absorção do ferro não heme pode variar entre 3% e 8%, dependendo da presença de fatores estimulantes dietéticos-especificamente o ácido ascórbico e a MFP. O ácido ascórbico não é apenas um poderoso agente redutor, mas também liga o ferro para formar um complexo prontamente absorvido. O mecanismo pelo qual a MFP potencia a absorção de ferro não heme em outros alimentos não é conhecido. A digestão da MFP pode levar à liberação de aminoácidos e polipeptídeos no intestino delgado superior, que forma então complexos solúveis absorvíveis com o ferro não heme. Para serem eficazes, as substâncias estimulantes devem ser consumidas junto com o ferro não heme.

A absorção de ferro pode ser inibida em grau variável por um certo número de fatores, incluindo carbonatos, oxalatos, fosfatos e fitatos (pão asmo, cereais não beneficiados e feijão de soja). Os fatores na fibra vegetal podem inibir a absorção do ferro não heme. Quando tomados nas refeições, o chá pode reduzir a absorção de ferro em 50%, por meio de formação de compostos de ferro insolúveis com o tanino. O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), um preservativo de alimentos, causa uma redução de 50% na absorção do ferro não heme. O ferro na gema de ovo é pouco absorvido devido à presença de fosvitina. A diarreia também resulta em precária absorção de ferro (Franco, 1992).

O ferro foi detectado como nutriente essencial para os animais em 1860. O interesse pelo ferro e pela anemia ferropriva é imbatível até hoje. Embora seja mais estudado do que os outros oligominerais, muitas questões permanecem sem solução.

O organismo do homem adulto contém de 3 a 5 g de ferro, dos quais 30 a 40% na forma de armazenamento. O ferro é muito bem conservado pelo organismo; cerca de 90% é recuperado e reutilizado exaustivamente (Anderson, 1988).

O ferro tem importância no transporte do oxigênio e dióxido de carbono, e está envolvido na maior parte ativa das enzimas que participam nos processos da respiração celular. O ferro parece estar envolvido no sistema imunológico e na performance cognitiva. Embora essas relações não tenham sido claramente identificadas, elas reforçam a imperativa necessidade de evitar a anemia ferropriva na população mundial (Finch, 1972).

A produção oxidativa de ATP na mitocôndria envolve muitas enzimas com ferro que podem ser heme ou não heme. Os citocromos, presentes nas células, funcionam na cadeia respiratória na transferência de elétrons e

armazenamento de energia pela oxidação alternativa e redução de ferro ($\text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+}$). Embora as enzimas vitais representem só uma pequena parte do ferro total, uma gota, na concentração celular, pode originar um efeito de longo alcance.

O ferro está associado com o sistema imune, mas o mecanismo de atuação não está ainda bem definido. Os neutrófilos, leucócitos do sangue que engolfam e destroem bactérias, tornam-se menos efetivos em presença da deficiência de ferro porque sua ação envolve diversas etapas ferro-dependentes. Duas proteínas ligadas ao ferro, transferrina e lactoferrina, parecem proteger o organismo contra infecções, impedindo o acesso dos microorganismos ao ferro, que necessitam dele para sua proliferação.

O papel desempenhado pelo ferro na performance cognitiva é muito interessante. Tem-se encontrado diferenças na performance escolástica, competência sensorimotora, atenção, aprendizagem e memória das crianças anêmicas e tópicos de controle (Krause, 1995).

O transporte nas células da mucosa e no sangue depende de mecanismos condutores de proteínas específicas. A transferrina, uma proteína sintetizada no fígado, transporta ferro no sangue até os eritroblastos para o uso na síntese do heme. A transferrina das mucosas carrega o ferro do heme intestinal para as células da mucosa. Dois íons férricos são ligados á transferrina para o transporte nos tecidos. Teorias mais recentes sugerem que o número de receptores da transferrina, na membrana celular, podem ser ajustados para as necessidades individuais da célula. As deficiências dietéticas do ferro são refletidas, primeiramente, pela saturação da transferrina circulante.

O ferro ingerido na dieta está disponível como o ferro-heme (hemoglobina e mioglobina) e como ferro não heme. O ferro-heme é absorvido pelas células da mucosa como um complexo porfirínico intacto. A absorção é pouco afetada

pela composição dos alimentos e secreções gastrointestinais. O ferro-heme representa de 5% a 10% do ferro da dieta, mas a absorção chega a ser de 25% comparada com 5% do ferro não heme.

O ferro não heme precisa estar na forma solúvel, no duodeno e jejuno superior, para ser absorvido. Ele é ionizado pelo ácido do suco gástrico, reduzido ao estado ferroso e quebrado com substâncias solubilizantes, tais como o ácido ascórbico, açúcares e aminoácidos contendo enxofre. Quando o quimo passa do estômago para o duodeno, as secreções duodenais aumentam o pH para 7 e, nesse ponto, a maioria dos íons férricos é precipitada, exceto quelados. O ferro ferroso é significativamente mais solúvel em pH 7 e, é assim, aproveitado para a absorção.

A taxa de absorção do ferro parece ser controlada pela mucosa intestinal que aceita as quantidades ditadas pelas necessidades corpóreas (Franco, 1992).

1.2 Desnutrição protéico-calórico

O termo desnutrição protéico-calórico é utilizado para descrever uma classe clínica de distúrbios resultantes de combinações e graus variados de deficiência protéico-calórico, usualmente acompanhado por estresse e lesão ambiental e fisiológica adicionais. Esses distúrbios freqüentemente são agravados por processos infecciosos e são acompanhados por outras deficiências nutricionais, como a deficiência intensa de vitamina A. Crianças com desnutrição protéico-calórico apresentam retardo no crescimento e desenvolvimento, enquanto outros sintomas clínicos variam com a idade e o estado da criança, além da intensidade de fatores causais (Krause, 1995).

A desnutrição protéico-calórico afeta a estrutura e a função de cada órgão do corpo. As causas, as manifestações e o tratamento foram intensamente

estudados nas crianças africanas e asiáticas, em quem a prevalência da forma primária da doença atinge 25%. Reconhece-se que as variedades secundárias da deficiência de proteína e energia são comuns nas populações hospitalares dos países desenvolvidos. Os pacientes enfermos de forma subaguda ou crônica que vivem um período de tempo maior sob a proteção dos tratamentos modernos, mas com a desvantagem da anorexia, hipermetabolismo ou má absorção, podem desenvolver a deficiência de proteína e energia rapidamente (Chaves, 1985).

Geralmente a desnutrição afeta a função nervosa ambos ao nível central e periférico (Morgane et al., 1978) e em alguns casos pode levar a distúrbios severos da linguagem, atividade motora e coordenação (Marcondes et al., 1976).

Mudanças no sistema nervoso devido a desnutrição constituem um problema mundial que foi estudado em seres humanos (Galler et al., 1985; Winick, 1969) e em animais de laboratório (Morgane et al., 1978; Wiggins et al., 1984).

Os efeitos da restrição alimentar durante a vida são evidenciados em bases experimentais e revelam muitas vezes que o déficit alimentar produz diminuição do crescimento e ainda pode incrementar a longevidade. Estes efeitos são bastantes diferentes dependendo do período da vida ao qual começa a restrição alimentar com os seus níveis ou com os nutrientes envolvidos na mesma.

Alguns autores consideram que a restrição dietética tem efeitos na longevidade, que não dependem de seus efeitos sobre o crescimento (Beauchene et al., 1986). De acordo com Goodrick em 1978 uma maior duração de crescimento resulta no aumento significativo da esperança de vida. Outros investigadores tem encontrado evidências de correlação entre o déficit

dietético e a duração média da vida assim como a duração do ciclo vital (Beauchene et al., 1986; Young, 1979; Yu et al., 1985; Belda et al., 1989; Thurman, 1994; Blackwell et al., 1995; Sheldon et al., 1995). Por outro lado Morrison em 1983, tem relatado que a deficiência em calorias, proteínas e nutrientes específicos, como a vitamina A, diminui a sobrevida. Com relação a influência da restrição protéica sobre a longevidade, os dados são contraditórios. Para alguns autores a restrição diminui a sobrevida (Davis, 1983) e outros tem confirmado sua influência no aumento da longevidade, ressaltando o efeito potencializador, no caso de estar associado a restrição calórica.

Em trabalhos realizados por Medular et al em 1991, ratas alimentadas durante 200 dias, com distintas dietas protéicas, constataram um aumento de 24% no tempo de vida depois de tratamento com dieta de vegetais (8,8% de proteína).

Ademais, Gajjar et al., em 1987 demonstraram em ratas, que a ingesta excessiva de proteína - ad libitum - (15-50% de proteína) não influencia na longevidade. Sem embargo, quando associados com restrição energética, se prolonga acentuadamente a vida de ratas auto-ímmunes.

As principais formas de desnutrição protéico-calórico são marasmo, onde a deficiência é primariamente da energia fornecida pelo alimento e manifesta-se pelo crescimento retardado, perda de tecido adiposo e atrofia generalizada da massa magra do organismo sem edema; kwashiorkor, causado pela deficiência protéica e que se manifesta pela insuficiência do crescimento (em crianças), hipoalbuminemia, edemia, fígado gorduroso e preservação do tecido adiposo; e kwashiorkor marasmo, no qual estão presentes as deficiências protéico-calórico do organismo. Embora a Desnutrição Protéico-Calórica (PEM) possa ser encontrada em todas as partes do mundo e ocorrer em todas

as idades, trata-se de uma doença que ocorre primariamente em crianças pequenas, que vivem em situações de extrema pobreza nos países subdesenvolvidos. A OMS estima que 300 milhões de crianças no mundo apresentam retardo de crescimento como resultado de desnutrição. A PEM intensa pode resultar numa taxa de 40% de mortalidade, usualmente como resultado de infecção (Krause, 1995).

Quando a ingestão da caloria cai abaixo da necessidade diária, o organismo responde com uma adaptação fisiológica ordenada, engendrada em grande medida por uma secreção reduzida de insulina, níveis plasmáticos de glucagon e cortisol aumentados e produção hepática reduzida de T_3 a partir da T_4 . Durante a privação parcial ou total de calorías, tanto a massa magra do organismo quanto o tecido adiposo contraem-se, mas este último o faz rapidamente.

Durante a primeira semana de inanição completa, o paciente habitual perde de 4kg a 5kg do peso corporal que consiste em aproximadamente 25% do tecido adiposo, 35% do líquido extracelular e 40% de protoplasma. As perdas do nitrogênio, potássio, sódio e cloreto, representam 3% a 8% do teor e cada elemento no organismo. Os equilíbrios negativos de magnésio, fósforo e cálcio também são consideráveis. Durante as semanas seguintes, à medida que se verificam novos ajustes adaptativos endócrinos e enzimáticos, as perdas de nitrogênio e de outros elementos continuam a ocorrer, mas numa velocidade menor. O compartimento intracelular não se contrai na mesma velocidade em todos os tecidos. O sistema nervoso central não perde peso. A musculatura esquelética atrofia-se mais rapidamente do que a musculatura cardíaca, enquanto que o trato gastrointestinal e o fígado perdem massa de maneira mais rápida do que os rins. A mobilização de aminoácidos dos músculos para o fígado permitem que este último órgão continue a sintetizar uma certa

quantidade de albumina e lipoproteínas; conseqüentemente, a hipoalbuminemia e o fígado gorduroso não são conspícuos (De Angelis, 1979).

Freqüentemente a ingestão de proteína é mais limitada que a de calorias. Isto ocorre porque a proteína da dieta é mais cara do que o carboidrato ou a gordura; porque a proteína de alto valor biológico (principalmente animal) é mais cara do que a proteína de baixo valor biológico (principalmente vegetal); porque os alimentos com alto teor de calorias e baixo teor protéico (muitos lanches, etanol, vegetais que contêm amido, como raízes) são freqüentemente utilizados no Estados Unidos e no exterior; e porque os médicos em geral usam a glicose como único nutriente orgânico na nutrição intravenosa do paciente que não pode se alimentar. O estado deficitário nestas condições é análogo ao kwashiorkor das crianças. A redução da secreção da insulina, que é um mecanismo central na adaptação à inanição energética, está prejudicada. A insulina que é secretada em resposta ao carboidrato da dieta ou intravenoso promove a lipogênese e retarda a lipólise, o tecido adiposo é bem preservado e os ácidos graxos livres não se encontram disponíveis para a oxidação no lugar dos aminoácidos. A elevada insulina plasmática também prejudica a mobilização e a redistribuição dos aminoácidos musculares da musculatura esquelética para o fígado. Os aminoácidos plasmáticos caem e a velocidade total da síntese de proteínas do organismo declina. É comum a infiltração gordurosa do fígado:

- 1- a falta de metionina limita a síntese de fosfolipídeos, prejudicando secundariamente a formação de lipoproteínas, e;
- 2- a síntese hepática de triglicerídeos a partir da glicose continua. No sangue, concentrações reduzidas de albumina, transferrina e

hemoglobina, refletem inanição protéica grave. O edema é característico desse estágio.

Graus variáveis de inanição calórica e protéica ocorrem juntamente (Chaves, 1985).

A desnutrição protéico-calórica geralmente está associada à duplicação de minerais do organismo. Em parte, tal fato reflete a concentração de protoplasma e do líquido extracelular com seus elementos constituintes (nitrogênio, fósforo, potássio e magnésio no interior das células, sódio e cloreto no líquido extracelular), sendo excretados na urina nas mesmas proporções que na massa magra do organismo. No entanto, as perdas geralmente ocorrem em desproporção à contração da massa magra do organismo. Uma razão é o desvio de potássio e magnésio do músculo para o plasma em troca de sódio. Além disso, o potássio, o magnésio e o cálcio ingeridos podem ser menos adequados do que a ingestão de proteínas e de calorias. Finalmente, as perdas renais e extra renais destes elementos podem ser significativas (diurese, diarreia, fistulas e etc...) (De Angelis, 1979).

O coração e os rins perdem a massa progressivamente durante a evolução da inanição protéico-energética. Essas perdas são geralmente proporcionais à erosão da massa magra do organismo, de modo que as proporções de massa cardíaca / massa magra do organismo e massa renal / massa magra do organismo permaneçam normais. Conseqüentemente, a insuficiência funcional destes dois órgãos retraídos não constitui uma característica habitual da depressão protéico-energética. O rendimento cardíaco declina paralelamente à queda do índice metabólico. A pressão sangüínea reduz-se conseqüentemente à queda do rendimento cardíaco. A resposta ventilatória à hipóxia é moderada. O índice de filtração glomerular e o fluxo sangüíneo estão reduzidos. A capacidade do rim de excretar uma carga ácida ou de responder

ao hormônio anti-diurético pode estar prejudicada. Embora estas alterações na estrutura e na função cardíaca e renal sejam apropriadas para a massa magra do organismo reduzida e para o estado hipometabólico, podem tornar-se desvantagens importantes durante a pletoxa nutricional intensa, a infecção aguda ou outras circunstâncias que requeiram aumentos rápidos no rendimento cardíaco, no índice metabólico e na excreção urinária de solutos. A insuficiência cardíaca e o óbito resultaram da repleção rápida da grave subnutrição protéico-calórica (Chaves, 1985).

O volume sangüíneo, o hematócrito, a albumina, a transferrina e a leucometria reduzidos são característicos do paciente desgastado. A anemia da depressão protéico-energética “pura” é normocítica e normocrômica e geralmente resulta na produção reduzida de eritrócitos, talvez refletindo a necessidade protéica de síntese de globina. Frequentemente, as deficiências de ferro, folato ou piridoxina contribuem para a anemia (Coutinho, 1966).

O trato gastrointestinal e o pâncreas se atrofiam. No intestino delgado, a altura das vilosidades, o índice mitótico e o teor de dissacarídeos e dipeptidases declinam todos. Os elementos exócrinos do pâncreas também sofrem atrofia e a produção das enzimas digestivas é reduzida. A proliferação bacteriana pode ocorrer no intestino delgado. Estes fatores combinam-se para produzir má-absorção e intolerância à lactose. A regressão estrutural e funcional do intestino delgado resulta, mais do que da má nutrição sistêmica, visto que os pacientes bem nutridos pela via parental exibem a mesma lesão (Burton, 1979).

Os tecidos linfáticos sofrem atrofia. A imunidade mediada pela célula prejudicada pode ser evidenciada por todos os exames padrões (resposta blastogênica dos linfócitos aos mitógenos, contagem linfocitária total e teste cutâneo com antígeno de evocação). A atividade bactericida dos leucócitos

polimorfonucleares encontra-se reduzida. As concentrações plasmáticas de imunoglobulinas e as respostas humorais aos antígenos estão preservadas. Os pacientes com inanição de proteína e energia experimentam morbidez e mortalidade elevada durante as infecções comuns, comparado aos grupos bem nutridos, estando sujeitos as infecções por organismos oportunistas (bactérias Gram-negativas, Cândida, herpes simples). A função respiratória prejudicada, que leva à atelectasia a pneumonia, é uma causa comum de morte (Chaves, 1985).

A resposta fibroblástica às feridas cirúrgicas é prejudicada pela depressão de proteínas e energia. Conseqüentemente, as incisões e as anastomoses entéricas cicatrizam mais lentamente nos pacientes subnutridos; a deiscência das feridas é comum (Franco, 1992).

Na inanição protéica-energética grave na ausência da febre, o índice metabólico basal está reduzido. A hipotermia é freqüente. Os mecanismos subjacentes são produção reduzida de calor devido a exaustão das reservas de carboidrato e gordura, T_3 plasmático é baixo, função adrenérgica possivelmente reduzida e perda do isolamento térmico quando estiver escasso o tecido adiposo subcutâneo. A hipoglicemia é em geral observada (Dutra, 1982).

Quase todas as fases do processo reprodutivo estão prejudicadas pela deficiência protéica na dieta da mãe. A fertilidade encontra-se reduzida. Se a implantação ocorrer, haverá um alto risco de reabsorção fetal precoce. Se a gestação se completar, a progênie será do tipo subpadrão no que diz respeito ao peso e ao comprimento. A lactação é prejudicada pela inanição protéica, de modo que a subnutrição é comum na época pós-natal. Mesmo se a nutrição pós-natal for adequada, o crescimento retardado no bebê é em parte

irreversível e a capacidade de aprendizado pode ficar prejudicada por toda a vida (Krause, 1995).

1.3 Radionuclídeos

Na medicina nuclear os radionuclídeos são largamente utilizados como radiofármacos nos seres humanos em procedimentos de diagnóstico e de terapia (Hladik III et al, 1987; Early & Sodee, 1995; Saha, 1998). É de grande interesse a utilização destes radionuclídeos devido as doses administradas, em diagnósticos, provocarem uma baixa exposição ao paciente e produzirem imagens de excelente qualidade. Porém, torna-se importante ressaltar os efeitos deletérios nos sistemas biológicos relacionados com o decaimento de isótopos radioativos como o carbono-14 (^{14}C), tecnécio-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), e o fósforo-32 (^{32}P), entre outros (Early & Sodee, 1995).

A escolha de um radionuclídeo para uso na medicina nuclear depende de vários fatores físicos como: 1- a meia vida física, 2- meia vida efetiva, 3- energia da radiação emitida e 4- o tipo de decaimento (Knoll, 1989).

Existem duas fontes principais para a produção de radionuclídeos. A fonte primária que consiste na produção direta de radionuclídeos através de reatores nucleares e aceleradores de partículas e a fonte secundária que consiste no método indireto através dos geradores de radionuclídeos. A importância dos geradores de radionuclídeos consiste no fato de que eles são facilmente transportados, ocupam pouco espaço e, ao contrário dos reatores e aceleradores de partículas, podem ser instalados facilmente em clínicas, hospitais ou centros diagnósticos. Um gerador é construído com base na relação entre o decaimento de um radionuclídeo pai (meia vida longa) e o aumento de um radionuclídeo filho (meia vida curta). O radionuclídeo filho é

separado do radionuclídeo pai como resultado de suas diferenças químicas. O mais importante e mais utilizado é o gerador molibidênio-99/tecnécio-99m ($^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$) Early & Sodee, 1995; Owunwanne, 1995; Saha, 1998).

1.4 Tecnécio-99m

Atualmente o radionuclídeo $^{99\text{m}}\text{Tc}$ é um dos mais utilizado em medicina nuclear com aplicação em muitos setores da medicina nuclear para procedimentos diagnósticos (Early & Sodee, 1995; Gutfilen, 1994; Saha, 1998; Srivastava, 1996) e também tem sido utilizado em pesquisa básica (Bernado-Filho, 1993).

As principais características de sua grande aceitação são: a) meia vida de 6 horas, podendo ser eluído com alguma antecedência, e seu decaimento após curto período diminui a exposição do paciente a radiação; b) emissão gama de 140 keV com uma abundância de 90%, sendo ótima para cintilografia em gama câmara; c) energia corpuscular desprezíveis; d) é facilmente obtido através de geradores $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$, portáteis, podendo ser instalados dentro da unidade diagnóstica sem ocupar muito espaço e com baixo custo; e) mínima dose absorvida pelo paciente; f) impacto ambiental desprezível; g) rejeitos radioativos insignificantes; h) possibilita marcação de diferentes espécies moleculares e celulares (Hladik III, 1987; Bernado-Filho, 1988; Saha, 1998; Early, 1995).

O $^{99\text{m}}\text{Tc}$ é um metal que está posicionado na tabela periódica entre os elementos de transição, próximo ao manganês (Mn) e rênio (Re), pertence ao grupo VII B, de número atômico 43 e massa atômica de 99,9062, possui sete elétrons na sua última camada, podendo perder esses elétrons e passar para o estado +7, formando o íon pertecnetato (TcO_4^-). A sua diversidade química

permite a sua incorporação por uma variedade de formas químicas, podendo assim marcar inúmeros radiofármacos (Dewanjee, 1990, Early & Sodee, 1995, Harbert, 1996, Srivastava, 1990, Kowalsky & Perry, 1987).

Apesar de apresentar inúmeras vantagens em relação a outros radionuclídeos utilizados na medicina nuclear e em pesquisas, o contato do ^{99m}Tc com as células pode ocasionar vários tipos de lesões que podem modificar a ácido desoxirribonucléico (DNA), com riscos à própria espécie, visto que este radionuclídeo tem associado ao seu decaimento a emissão de elétrons Auger (15 – 21keV) e elétrons de conversão interna (128 - 138keV) (Silva, 1995; Saha, 1998). Estas emissões são capazes de gerar espécies reativas de oxigênio no meio sobre o qual incidem e podem também interagir diretamente com as células presentes nesse meio. Alguns efeitos lesivos dessas emissões já foram descritos na literatura, tais como danos no cromossomo, inibição de divisão celular de leucócitos marcados com ^{99m}Tc e citotoxicidade em *Escherichia coli* (Silva, 1995; Silva et al, 1998).

1.5 Radiofármaco

O radiofármaco é usado em seres humanos com fim de diagnóstico ou tratamento de doenças em qualquer que seja a via de administração. Por serem usados em quantidades mínimas, na maioria dos casos, geralmente não possuem efeito farmacológico. Os radiofármacos devem ser estéreis, livres de pirógenos, não provocar reações tóxicas ou anafiláticas e ser submetidos a rígidos controles de qualidade, possuem dois componentes: o radionuclídeo e o fármaco. O radiofármaco será elaborado com base nas características de cada um destes componentes. O fármaco poderá ser escolhido por sua localização preferencial em um determinado órgão ou pela sua participação

em processos fisiológicos ou patológicos de interesse. Este fármaco poderá ser uma célula, um hormônio, um neurotransmissor ou uma medicação, contanto que, o produto de interação entre o fármaco e o radionuclídeo seja um radiofármaco estável, capaz de exercer sua função com mais alto grau possível de especialidade (Saha, 1998).

Um radiofármaco é ideal como agente de diagnóstico quando apresentar: a) fácil preparo; b) meia vida curta; c) emissão de radiação gama; d) localização apenas no órgão ou tecido desejado; e) exposição do paciente e profissional da área de saúde a uma dose de radiação insignificante (Baum, 1987; Bernado-Filho, 1988; Early & Sodee, 1995).

Na tabela 1 estão alguns radiofármacos marcados com ^{99m}Tc e suas respectivas aplicações.*

RADIOFÁRMACO	APLICAÇÃO
Ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA)	Rim, cérebro
Ácido dimercaptosuccínico (DMSA)	Rim
Ácido metilenodifosfônico (MDP)	Osso
Albumina (HSA)	Volemia
Difosfonato de sódio	Osso
Dimetilacetanilidaiminodiacetato (HIDA)	Fígado
Enxofre coloidal (SC)	Fígado e baço
Hemácias	Ventriculografia; detecção de hemorragias gastrintestinais e de hemangiomas hepáticos
Hexametilpropilenoamina oxima (HMPAO)	Cérebro
Macroagregados de albumina (MAA)	Pulmão (perfusão arterial periférica e regional)
Pirofosfato de sódio	Coração/osso
PHY (fitato de sódio)	Medula óssea e fígado
Teroboxime	Perfusão do miocárdio

* (Adaptado de Bernado-Filho, 1988; Early & Sodee, 1995)

1.5.1 Marcação de hemácias com ^{99m}Tc

A marcação de hemácias com ^{99m}Tc foi realizado pela primeira vez em 1967 por Fisher et al. Hemácias marcadas com ^{99m}Tc são empregados em medicina nuclear para obtenção de imagens através do pool sangüíneo, avaliação do sistema cardiovascular, volemia, hemorragias gastrintestinais e outros (Callahan et al, 1982; Bernado-Filho, 1988; Srivastava & Straub, 1990).

Diversos fatores facilitam a marcação de hemácias: a) as hemácias são as mais numerosas entre todos os elementos celulares sangüíneos; b) são simples de separar e manipular, sendo resistente à vários agentes físicos e químicos *in vitro*; c) não são tão dependentes de energia ou suplementos nutricionais como outros elementos celulares *in vitro*; d) dispõe de vários mecanismos de transporte celular, sendo a hemoglobina rica em locais ativos de ligações metálicas (Braga et al, 2000).

A marcação de hemácias com ^{99m}Tc pode ser realizado por vários métodos (*in vitro*, *in vivo* ou os métodos *in vitro* e *in vivo* combinados (Bernado-Filho et al, 1983, Callahan et al, 1982; Owunwanne, 1995). No método *in vitro*, o sangue é retirado do paciente e incubado com o cloreto estanoso e depois o pertecnetato. Atingido o tempo de incubação ideal, o preparado é reinjetado no paciente. No método *in vivo* injeta-se primeiro o cloreto estanoso no paciente, espera-se 20 minutos e injeta-se o pertecnetato. No método combinado, injeta-se o agente redutor no paciente e após 20 minutos retira-se o sangue. Adiciona-se o pertecnetato, incuba-se por 10 minutos e reinjeta o preparado no paciente. Dos métodos mencionados acima é a marcação *in vitro* que proporciona maior estabilidade do radiofármaco resultando em melhor

eficiência de marcação e melhores imagens em gama câmara, porém por uma questão de conveniência e menor exposição do técnico ao sangue do paciente, o método in vivo é amplamente utilizado (Owunwanne, 1995; Baum, 1987; Early & Sodee, 1995).

2 Objetivos

2.1. Objetivo geral

Verificar a influência da desnutrição protéico-calórica e da anemia ferropriva em ratos Wistar sobre a marcação de células vermelhas (hemácias) e proteínas plasmáticas com ^{99m}Tc .

2.2. Objetivo específico

- Estudar o efeito da marcação de células vermelhas e proteínas plasmáticas com ^{99m}Tc de sangue isolado de ratos Wistar em dieta normal.
- Estudar o efeito da marcação de células vermelhas e proteínas plasmáticas com ^{99m}Tc de sangue isolado de ratos Wistar em dieta pobre em ferro.
- Estudar o efeito da marcação de células vermelhas e proteínas plasmáticas com ^{99m}Tc de sangue isolado de ratos Wistar em dieta de indução a desnutrição protéico-calórica.

3 Materiais e métodos

3.1. Animais e dieta

Animais anêmicos (n=5): ratos alimentados com dieta preparada segundo as normas da AIN-G, exceto para a fonte de ferro que foi excluída.

Para o grupo controle foram utilizados ratos desmamados aos 23 dias de idade, da linhagem Wistar procedente da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE, alimentados com dieta labina.

Animais com desnutrição protéico-calórica (n=5): ratos alimentados com a Dieta Básica Regional (DBR), desde o início da vida.

Animais do grupo controle (n=5): ratos alimentados com dieta labina.

Os experimentos de marcação de hemácias foram utilizados cinco animais e com três repetições.

3.2. Anemia experimental

O ensaio biológico baseou-se no modelo de depressão e repleção da hemoglobina (Flitz, 1970; Forbes, 1989; AOAC, 1990.)

Fase de depressão: caracteriza-se pela obtenção de ratos anêmicos oferecendo dieta pobre em ferro

Indução da anemia ferropriva

Para a indução da anemia ferropriva foram utilizados ratos desmamados aos 23 dias de idade, da linhagem Wistar procedente da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE. Os animais foram submetidos a uma dieta pobre em ferro e oferecidos água deionizada ad libitum, durante 28 dias para obtenção da anemia. Após o período de depressão, colheu-se sangue pelo plexo ocular para determinação da Hb, seguindo-se o método da

cianometahemoglobina. A anemia foi definida por níveis de hemoglobina abaixo de 7g/dl de sangue, conforme Flitz, 1972.

As dietas experimentais foram preparadas baseadas no estudo da “American Institute of Nutrition”-AIN-93G, modificada quanto a fonte de ferro. A mistura mineral empregada na dieta para provocar a anemia ferropriva, foi preparada sem a adição de sulfato ferroso, para garantir uma dieta pobre em ferro, a tabela 1 apresenta a composição percentual da dieta experimental.

Tabela 2 – Composição percentual da dieta experimental

INGREDIENTES	DIETA POBRE EM FERRO (%)
Amido	57.95
Caseína	20.00
Sacarose	10.00
Óleo de soja	7.00
Mistura mineral isenta de ferro	3.50
Mistura vitamínica	1.00
Metionina	0.30
Bitartarato de colina	0.25

Determinação dos níveis de hemoglobina

A concentração de hemoglobina (g/dL) foi determinada pelo método da cianometahemoglobina (Hailini, 1958). Os níveis de Hb foram determinados após diluição de 20µl de sangue em 5ml da solução de cianeto. A densidade óptica foi contada por espectrofotometria em 540 nm. Os resultados obtidos

em absorvância foram convertidos em g/dL através do produto absorvância por um fator. O fator foi estimado a partir de um padrão de hemoglobina de concentração igual a 10 g/dL que foi dividido pela sua absorvância.

3.3. Indução a desnutrição protéico-calórica

Para a indução da desnutrição protéico-calórica foram utilizados ratos no período da amamentação, da linhagem Wistar procedente da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE.

A dieta é fornecida aos animais no período da amamentação. O tempo para se obter a desnutrição nos ratos, inclusive na genitora é de 21 dias. A dieta foi iniciada com nove ratos recém nascidos, ao final dos 21 dias somente cinco sobreviveram.

A desnutrição protéico-calórica é obtido através da Dieta Básica Regional (DBR) produzidas no Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, que é constituída de quatro elementos, o feijão (*Phaseolus vulgaris*), a batata doce (*Ipomea batatas*), a farinha de mandioca (*Manihot esculenta*) e a charque (carne bovina salgada e prensada). O feijão, a carne de charque e a batata doce são cozidos no estilo caseiro (em água), os dois primeiros durante duas horas e a batata doce durante 30 minutos.

Foram desidratadas a uma temperatura de 60-70°C em estufa (marca Fanem) com corrente de ar forçada durante o tempo aproximado de 48-60 horas. Em seguida foram triturados em moedor (marca Flour Grind Mill-Type D) e a seguir peneirados.

A farinha de mandioca é misturado aos demais alimentos, na proporção comumente utilizado na alimentação básica da população (ver tabela 2)

Tabela 3 - Composição da dieta experimental (g/100g)

Ingredientes	DBR
Feijão	8.34g
Farinha de mandioca	64.81g
Charque	3.74g
Batata doce	12.76g
Gordura da charque	0.35g
Proteína g/100	7.87g
Kcal/100g	315.64 Kcal

3.4. Marcação de hemácias *in vitro* com ^{99m}Tc

Amostras de 0,5ml de sangue de ratos Wistar (n=5) foram coletadas e adicionadas o anticoagulante EDTA para depois adicionar 0,5ml de solução de SnCl_2 1,2 $\mu\text{g/ml}$ em temperatura ambiente. Após uma hora foram adicionados 0,1ml de ^{99m}Tc na forma de pertecnetato de sódio ($^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$), em todos os tubos, com a incubação nas mesmas condições por mais 10 minutos. As amostras são então submetidos a uma centrifugação de 3000 rpm por 10 minutos em uma centrífuga clínica Alpha ICA (Instrumentos Científicos Alpha Ltda). Alíquotas do plasma (P) e células (C) foram então separadas e a porcentagem de radioatividade (%ATI) foram calculadas. Para avaliar o efeito da anemia ferropriva e da desnutrição na ligação do ^{99m}TC nas proteínas plasmáticas e celulares, alíquotas de P e C (20 μl) foram precipitadas em 1ml

de ácido tricloroacético (TCA 5%) sendo então isolada a fração solúvel (FS) e insolúvel (FI) de P e C. A percentagem da radioatividade incorporada aos elementos sanguíneos foi calculada segundo as seguintes fórmulas:

$$\text{a) \% ATI C} = \frac{\text{CPM (C)}}{\text{CPM (P) + CPM (C)}} \cdot \text{X } 100$$

$$\text{b) \% ATI FI-P} = \frac{\text{CPM (FI-P)}}{\text{CPM (FS-P) + CPM (FI-P)}} \cdot \text{X } 100$$

$$\text{c) \% ATI (FI-C)} = \frac{\text{CPM (FI-C)}}{\text{CPM (FS-C) + CPM (FI-C)}} \cdot \text{X } 100$$

4 Resultados e discussão

4.1 Estudo da influência da anemia ferropriva e da desnutrição protéico calórico na marcação de elementos sanguíneos com Tc-99m

No início do experimento da indução da anemia ferropriva, os animais recém desmamados apresentavam médias de peso equivalentes, como ilustrado na figura 1. Na fase de obtenção da anemia (28 dias), não houve diferença significativa de peso entre os dois grupos.

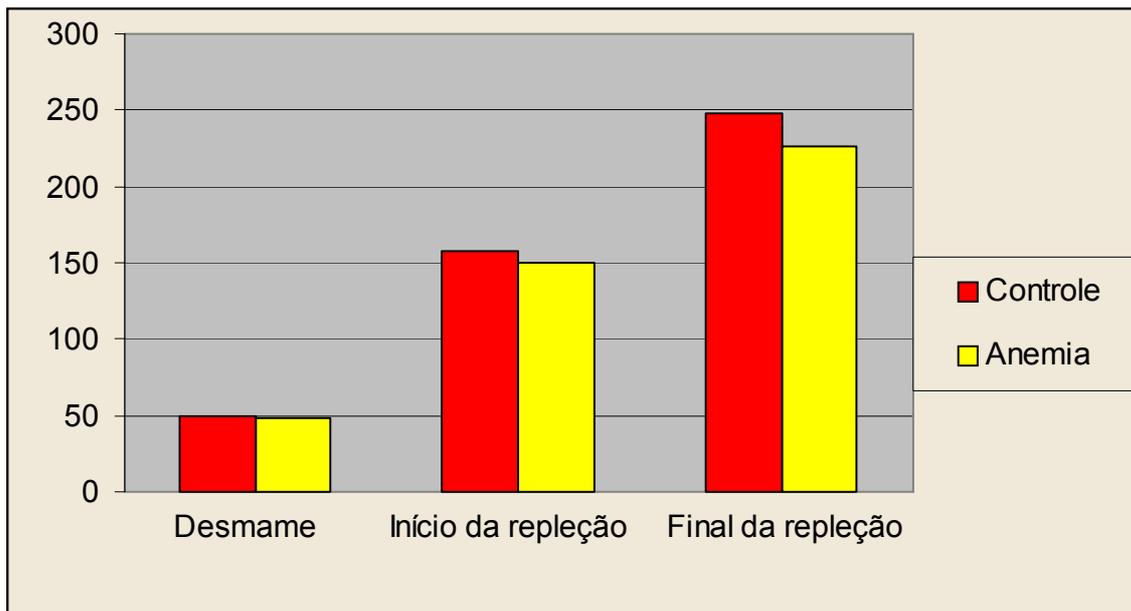


Fig.1 - Peso corporal (g) de ratos por grupo experimental e fase de experimento.

Embora não se tenha observado neste experimento, comprometimento do ganho de peso nos animais nas primeiras semanas de restrição de ferro, é

importante lembrar que o aumento do requerimento de ferro cursa com uma maior necessidade durante a fase de crescimento rápido e por isso alcança o conceito de período crítico. Período particular de tempo durante o desenvolvimento inicial onde o cérebro e outros órgãos são especialmente susceptíveis a deficiência de ferro (Tanaka et al, 1995; Nelson et al, 1997)

Os níveis de concentração da hemoglobina sanguínea é o parâmetro bioquímico para a determinação da anemia. O ensaio biológico para provocar a anemia mostrou que após 28 dias com dieta pobre em ferro os animais apresentaram-se anêmicos (figura 2). Verifica-se que os valores médios de Hb, no final do período de depleção foi significativamente menor no grupo dos animais com dieta deficiente em ferro, quando comparados com o controle.

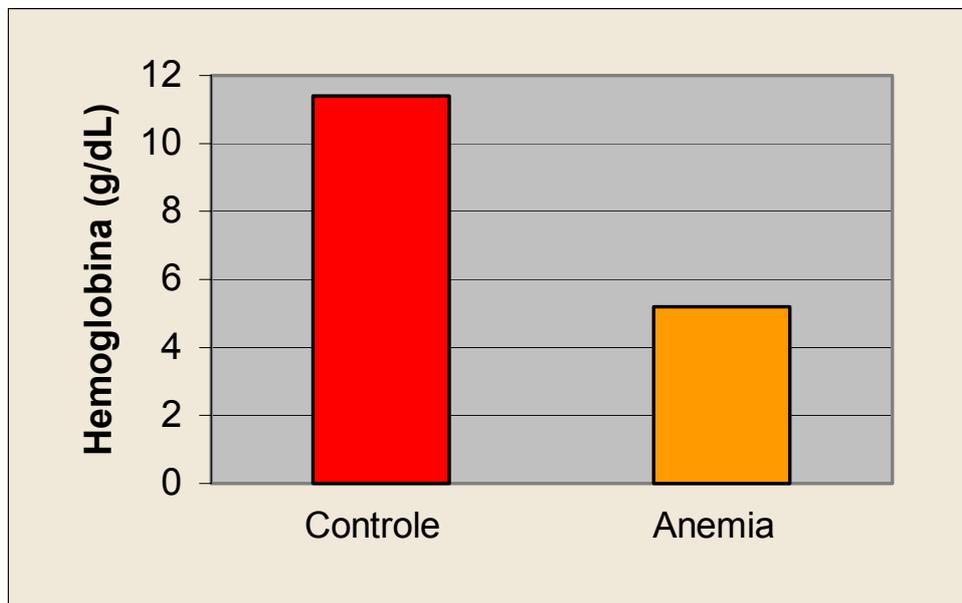


Fig.2 - Níveis de hemoglobina entre os animais que receberam dieta controle ou pobre em ferro no período de depressão (28 dias).

Níveis de hemoglobina entre os animais que receberam dieta controle ou pobre em ferro no período de depressão (28 dias).

Grupos	Hemoglobina (g/dL)
Controle	11.42 ± 0.42
Anemia	5.22 ± 0.35

Média ± dp

Os animais submetidos a dieta (DBR) para indução da desnutrição protéico-calórica tiveram seus pesos corporais significativamente menores quando comparados aos animais alimentados com dieta normal (labina), submetidos a uma mesma condição ambiental (figura 3).

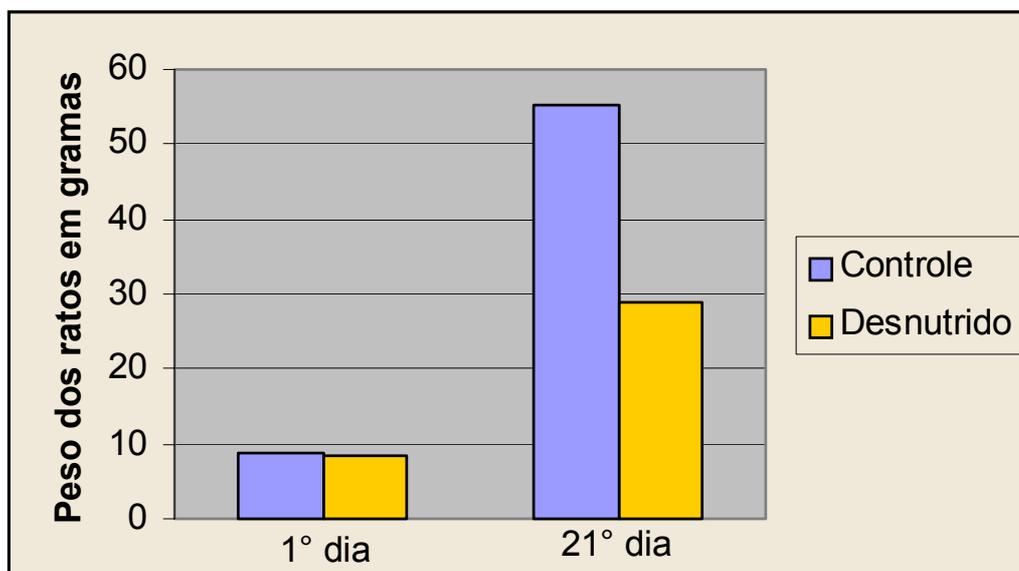


Fig.3 - Peso corporal (g) dos ratos em dieta normal (controle) e DBR (desnutrido).

As figuras 4 e 5 representam o diagrama da %ATI fixada às hemácias e ao plasma, sob a influência da anemia ferropriva e da desnutrição.

Como podemos ver nas figuras 4, evidenciamos uma queda na marcação de hemácias e na figura 5 um aumento na marcação das proteínas plasmáticas em relação ao grupo controle. Para análise estatística utilizou-se a **média** o **desvio padrão** e o **teste t**.

No grupo dos ratos com desnutrição verifica-se uma queda nas marcações com hemácias e um pequeno aumento nas marcações das proteínas plasmáticas em comparação ao grupo controle, e no grupo dos animais com anemia ferropriva observamos um decaimento acentuado nas marcações das hemácias e um aumento significativo nas marcações das proteínas plasmáticas.

Observa-se na figura 4 que a capacidade de fixação do Tc-99m nas hemácias dos animais controle é de 60%, no entanto pode-se verificar que nos animais desnutridos ocorre uma redução de aproximadamente 15% em relação ao controle e nos animais com anemia se reduz aproximadamente 50% quando comparado ao controle.

Esta redução da marcação das hemácias se deve possivelmente a redução das hemoglobinas das hemácias, uma vez que o Tc-99m após atravessar as membranas possui sítios de ligações com a hemoglobina. No caso da desnutrição vários fatores podem influenciar na marcação, como por exemplo a fragilidade celular e interação com o Tc-99m.

Por outro lado, nas frações plasmáticas apresenta-se uma melhor fixação do Tc-99m com as proteínas plasmáticas dos animais anêmicos e desnutridos em relação ao controle.

Após incubação das hemácias com o Tc-99m, amostras são precipitadas com TCA 5% e centrifugados. O precipitado é denominado fração insolúvel da hemácia (FIC) e o sobrenadante de fração solúvel da hemácia (FSC) (fig. 6

e 7). O mesmo procedimento é feito com o plasma, formando assim a fração insolúvel do plasma (FIP) e a fração solúvel do plasma (FSP) (fig. 8 e 9).

As figuras 6 e 7 representam a curva da %ATI fixada às frações solúveis e insolúveis das hemácias (FSC e FIC) e as figuras 7 e 8 as frações solúveis e insolúveis do plasma (FSP e FIP), sob a influência da anemia ferropriva e da desnutrição.

Como podemos ver nas figuras 6 e 7, evidenciou-se alterações nas marcações das frações solúveis e insolúveis das hemácias (FSC e FIC) e na figuras 8 e 9 também observou-se alterações nas marcações das frações solúveis e insolúveis do plasma (FSP e FIP) em relação ao grupo controle. Para análise estatística utilizou-se a **média o desvio padrão** e o **teste t**.

Nas frações insolúveis (FI) a diminuição da marcação se deve possivelmente a redução das proteínas insolúveis acarretados pela anemia e pela desnutrição, favorecendo assim o aumento nas marcações das frações solúveis (FS).

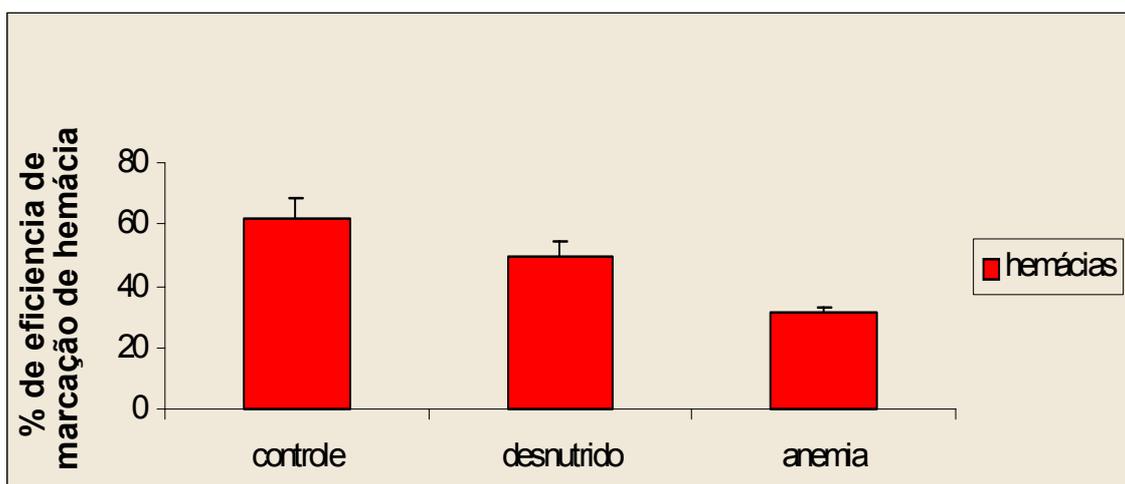


Fig.4 - Comparação da porcentagem de eficiência da marcação de hemácias

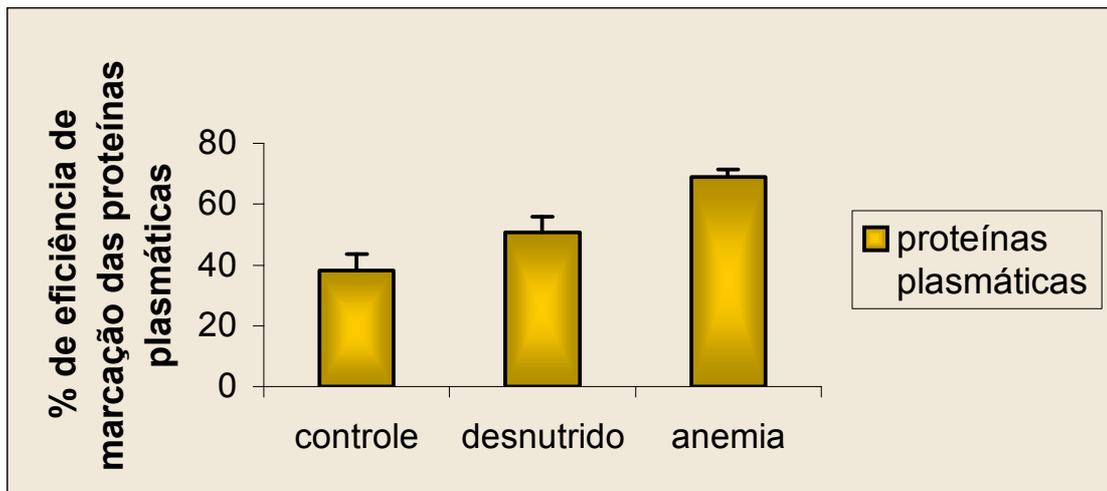


Fig.5 - Comparação da porcentagem de eficiência da marcação de proteínas plasmáticas

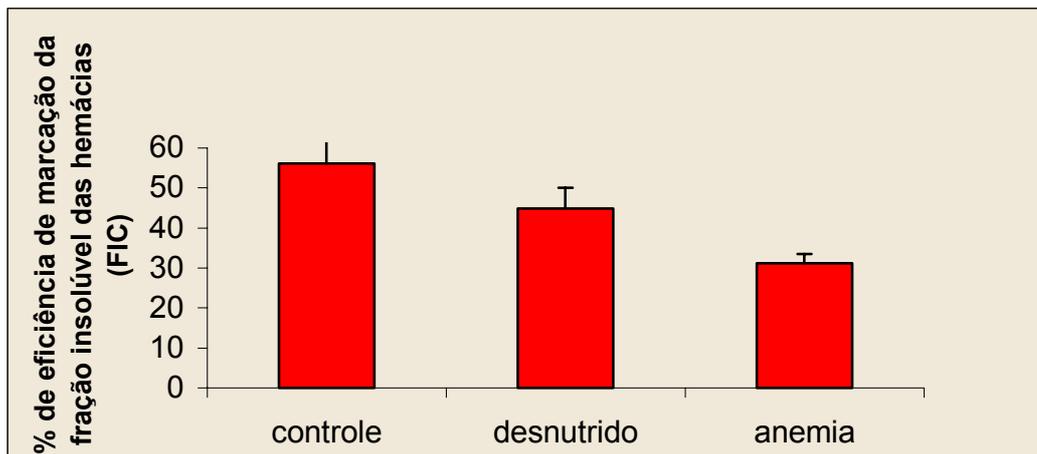


Fig.6 - Influência da anemia e da desnutrição na marcação da fração insolúvel das hemácias (FIC)

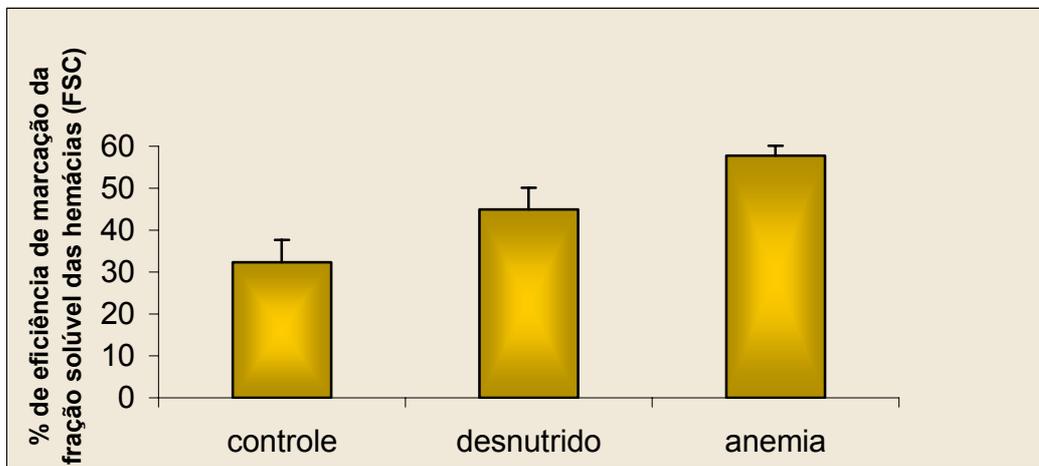


Fig.7 - Influência da anemia e da desnutrição na marcação da fração solúvel das hemácias (FSC).

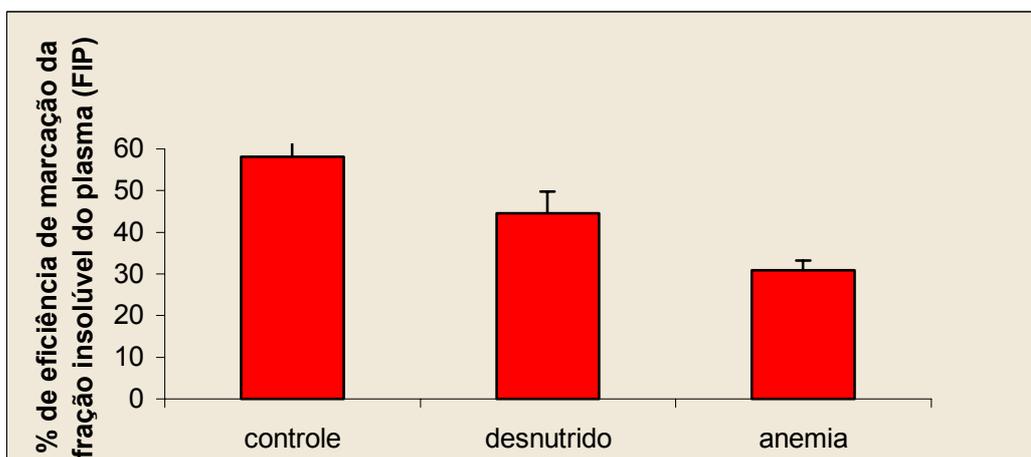


Fig.8 - Influência da anemia e da desnutrição na marcação da fração insolúvel do plasma (FIP)

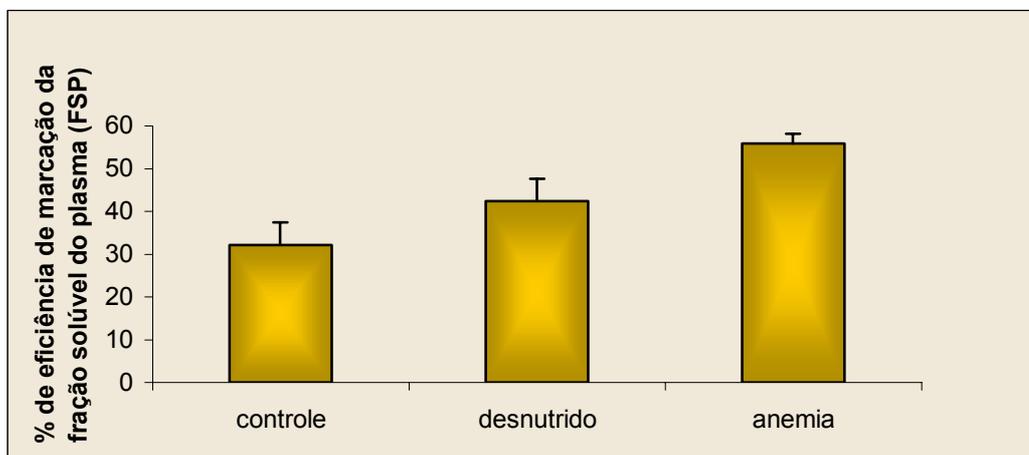


Fig.9 - Influência da anemia e da desnutrição na marcação da fração solúvel do plasma (FSP)

No trabalho apresentado por Moura EG no VII Simpósio Regional de Biofísica e II Encontro Nacional de Biociências Nucleares na UFPE realizado nos dias 23 à 26 de novembro de 1999 sobre a influência da desnutrição protéica na lactação sobre a distribuição de Tc-99m em ratos adultos desnutridos verificou-se que a desnutrição em animais cujas mães receberam dieta hipoprotéica na lactação é importante para a distribuição de pertecnetato de sódio ($^{99}\text{TcO}_4\text{Na}$), que deve ser considerada durante o exame com este radionuclídeo.

Em outro trabalho também apresentado no VII Simpósio Regional de Biofísica e II Encontro Nacional de Biociências Nucleares na UFPE sobre a alteração na distribuição de tecnécio em ratos adultos desnutridos, observou-se

que a desnutrição protéica ou calórica produz diferentes modificações na captação de pertecnetato, que devem ser levados em consideração durante o exame com este radionuclídeo, especialmente no coração, estômago, tireóide e osso.

5 Conclusão

Ao avaliarmos a interferência na marcação de amostras de sangue de ratos wistar induzidos à anemia ferropriva constatamos uma diminuição significativa na marcação das hemácias, das frações insolúvel das hemácias e insolúvel do plasma e um aumento considerável na marcação das proteínas plasmáticas, das frações solúvel das hemácias e solúvel do plasma.

Este trabalho demonstrou que a anemia ferropriva que geralmente é consequência da desnutrição, altera os resultados dos diagnósticos em medicina nuclear nas marcações com o tecnécio (^{99m}Tc). Deste modo para podermos obter um diagnóstico de confiança, a anemia ferropriva e a desnutrição protéico calórica deverão ser corrigidas por um nutricionista antes dos pacientes serem submetidos aos exames com o tecnécio (^{99m}Tc), evitando assim, alterações nos diagnósticos devidos a anemia ferropriva e a desnutrição protéico calórica.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta, A. Iron absorption from typical Latin American Diets. *Am.J Clin. Nutr.* 39: 953-62, 1984.

Anderson, L. *Nutrição*. 17 ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1988.

AOAC (Association of Official Agricultural Chemists). *Official Methods of analysis*. 15th ed., Washington, 1990.

Baum, S. *Current practice in nuclear medicine*. Appleton & Lange, Califórnia, 1987.

Beard, L. J. Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutr. Rev.* Vol. 54, n. 10, 1996.

Beauchene, R.E., Bales, C.W., Brag, S.S., Hawkins, T. & Mason, R.L. Effect of age of initiation of feed restriction on growth body composition, and longevity of rats. *J. Gerontol*; 41: 13-19, 1986.

Belda, M.C.R., Lia, R.C.C., Benatti Neto, C. & Mendes, A.J.D. Desenvolvimento e duração da vida em relação a restrição alimentar imposta a ratos de laboratório. *Aliment. Nutr.*; 1: 47-60, 1989.

Benito, P. Iron absorption and bioavailability: : na update review. *Nutr. Rev.*: 18, 3, 581-601, 1998a. Comparison of oral intraperitoneal iron supplementation in anemic rats: a re-evaluation of the mucosal block theory of iron absorption. *Br. J. Nutr.* 79, 533-540, 1998b.

Bernado-Filho, M. *Marcação de estruturas biológicas com Tecnécio-99m*. Tese (Doutorado), Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro-Brasil, 1988.

Bernado-Filho, M., Moura, I.N.S. AND Boasquevisque, E.M. 99m-technetium-labeled red blood cells in vitro". *Arq. Biol. Tecnol.*, 26: 455-461, 1983.

Bernado-Filho, M., Pires, E.T., Boasquevisque, E.M., AND Hassón-voloch, A. Studies on the incorporation of 99m-technetium to the platyhelminth *Dugesia Tigrina*. *Rev.Parasitol*, 44: 7-11, 1993.

Beutler, E. Composition of the erithrocyte. In: Beutler, E., Lichtmans, MA., Coller., BS (Editors). 5^a ed. *Williams hematology*. Willians & Wilkins, Baltimore, 267-368, 1994.

Blackwell, B.N., Bucci, T.J., Flart, R.W. & Turturro, A. Longevitybody weight, and neoplasia in ad libitum fed and diet restricted C57BL6 mice fed NIH-31 open formula diet. *Toxicol Pathol*; 23: 570-572,1995.

Borel, M. J. Smith, S. H. The impact of Varying Degrees of Iron Nutriture on Several Functional Consequences of Iron Deficiency in Rats. *J. Nutr.* 121: 729-736, 1991.

Braga, A.C.S., Oliveira, M.B.N, Feliciano, G.D., Reiniger, I.W., Oliveira, J.F., Silva, C.R., Bernado-Filho, M. The effect of drugs on the labeling of blood elements with technetium-99m. *Curr. Pharm. Des.*, 6: 1179-1191, 2000.

Burton, Benjamim Theodore. *Nutrição humana; Manual de nutrição na saúde e na doença – São Paulo: Mc Graw Hill do Brasil, 1979.*

Callahan, R.J., Froelich, J.W., Mckusick, K.^a, Leppo, J. And Strauss, H.W. A modified method for the in vivo labeling of red blood cells with Tc-99m: concise communications. *J. Nucl. Med.*, 23: 315-318, 1982.

Carpenter, C.E. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. *Rev. Food Science and Nutrition*, 31(4) 333-367, 1992.

Chaves, Nelson. *Nutrição básica e aplicada / Nelson Chaves. 2 ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985.*

Coutinho, Ruy. *Noções de fisiologia da nutrição. Rio de Janeiro: O cruzeiro, 1966.*

- Cook, J. D.; Skikne, B. S. and Baynes, R. D. Iron Deficiency: Global Perspective. *Prog. Iron Res.* 45: 141-146, 1994.
- Dallman, P. R. et al. Cytocrome C and myoglobin in iron deficient rats. *Pediatrics*, 35: 677, 1965.
- Davis, T.A., Bales, C.W. & Beauchene, R.E. Differential effects of dietary caloric and protein restriction in the aging rat. *Exp. Gerontol*; 18: 427-435, 1983.
- De Angelis, R. C. & Ctenas, M. I. Biodisponibilidade de ferro na alimentação infantil. *Temas de Pediatria. Nestlé*; n. 52, 1993.
- De Angelis, R. C. *Fisiologia da nutrição*. V. 2, 2 ed. – São Paulo: EDART – São Paulo Livraria Editora Ltda., 1979.
- De Mayer, E. et al.,. The prevalence of anemia in the world. *World Health Stat. Quart.*, n. 38, p. 302-316. 1985.
- Dewanjee, M.K. The chemistry of ^{99m}Tc labeled radiopharmaceuticals. *Sem. Nucl. Med.*, 1: 5-27, 1990.
- Dutra, Avany Corrêa, *Nutrição básica*. São Paulo; Sarvier, 1982.
- Early, P.J. & Sodee, D.B. *Principles and Practice of Nuclear Medicine*. 2th. New York, 1995.
- Finch, C. A.; Lenfant, C. Oxygen transport in men. *N. Engl. J. Med.* 286: 407-410, 1972.
- Fisher, J., Wolf, R., Leon A. Technetium-99m as a label for erythrocytes. *J. Nucl. Med.*, 8:229-232, 1967.
- Flitz, J.C.; Pla, G.W.; Roberts, T. Biological availability in animals of iron from common dietary sources. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Washington, v. 18, n.4, p. 647-651, 1970.

Forbes, A.L.; Adams, C.E.; Arnaud, M.J.; Chichester, C.; Cook, J.D.; Harrison, B.N.; Hurrell, R.F. Comparison of in vitro, animal, and clinical determinations of iron bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Philadelphia, v. 49, n.2, p. 225-238, 1989.

Franco, G., Tabela de composição química dos alimentos, 9 ed., Livraria Atheneu Editora, Rio de Janeiro, 1992.

Galler, J. R., Ramsey, F. and Solimano, G. *Pediatric Research*, 19: 524-527, 1985.

Gajjar, A., Kubo, C., Johnson, B.C. & Good, R.A. Influence of extremes of protein and energy intake on survival of B/W mice. *J. Nutr.*; 117: 1136-1140, 1987.

Goodrick, C.L. Body weight increment and length of life: the effect of genetic constitution and dietary protein. *J. Gerontol*; 33: 184-190, 1978.

Gutfilen, B., Pellini, M., Roure-neder, J., Amarante, J.L.M., Evangelista, M.G., Fernandes, S.R., Bernado-Filho, M. ^{99m}Tc-labeling white blood cells with a simple technique: clinical application. *Ann. Nucl. Med.*, 8: 85-89, 1994.

Junqueira, L. C. & Carneiro, J. *Histologia básica*. 9^a ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1997.

Hailine, A In: *Standard methods of clinical chemistry*. 3:52, 1958.

Harbert, J.C. Atomic and nuclear structure. In: Harbert, J.C., Eckelman, W.C., Neumann, R.D., eds. *Nuclear Medicine: diagnosis and therapy*. New York: Thieme Medical Publishers, New York, 1996.

Hladik III, W.B., Saha, G.B., Study, K.T. *Essentials of Nuclear Medicine Science*. New York: Williams and Wilkings, 189-219: 1987.

Knoll, G. F. *Radiation detection and measurements*. John Wiley e Sons, Insc., USA, 1989.

Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia / L. Kathleen Mahan, Marian T. Arlin. 8. Ed. São Paulo: Roca, 1995.

Kowalsky, R.G. & Perry, J.R. Radiopharmaceuticals in nuclear medicine practice. Appleton and Lange, Califórnia, 1987.

Layrisse, M. et al.,. Requeriments of nutrientes wich partipate in erithropoiesis. Arch. Latinoam.. Nutr. V. 38, n. 3, p. 622-646, 1988.

Marcondes, E., et al.,. Desnutrição. Sarvier. São Paulo, 288p, 1976.

Organizacion Mundial de la salud. Lucha contra la anemia nutricional, especialmente contra la carencia de hierro. Série de informes técnicos n 580, Ginebra, 1975.

Masoro, E. J. Nutrition and aging – a current assessment. J. Nutr.; 115: 842-845, 1985.

Medular, B. J., Petzke, K.J., Semesko, T.G., Albrecht, V. & Grigorov, J. The effect of differen protein diets on longevity and various biochemical parameter of aged rats. Nahrung; 35: 961-967, 1991.

Morgane, P. et al, Neuroscience and biobehavioral Reviews,m, 2: 137-230, 1978.

Morrison, S.D. Nutrition and longevity. Nutr. Rev,,: 41: 133-142, 1983.

Nelson, C., Erikson, K., Pinero, D. J. In vivo dopamine metabolism is altered in iron-deficient anemic rats. J. Nutr., 127:2282-2288,1997.

Owunwanne, A., Patel, M., Sadek, S. The Handbook of Radiopharmaceuticals. Chapman and Hall Medical, 1995.

Saha, G.B., Fundamentals of Nuclear Pharmacy. 4th ed. New York: Springer-Verlag, 1998.

Sheldon, W.G., Bucci, T.J., Hart, R.W. & Turturro, A. Age relatededeoplasia in a life the studyb of ad libitum fed and food restricted B6C3f1 mice. Toxicol Pathol; 23: 458-476, 1995.

Sichieri, S. Anemia nutricional em crianças menores de 5 anos do município de São Paulo: Papel da dieta na determinação de sua prevalência. São Paulo, 1987.

Silva, C.R. Estudo dos efeitos biológicos do Tecnécio 99m e do Tecnécio 99 em culturas bacterianas. Dissertação (Mestrado em Biologia), Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 1995.

Silva, C.R., Valsa, J.O., Caniné, M.S., Caldeira-de-Araújo, A. and Bernado-Filho, M. Evaluation of Technetium-99m decay on *Escherichia coli* inactivation: effects of physical or chemical agents. *Yale J. Biol. Med.* 71: 7-14, 1998.

Srivastava, S.C. & Straub, R.F. Blood cell labeling with ^{99m}Tc: progress and perspectives. *Semin. Nucl. Med.*, 1: 41-51, 1990.

Srivastava, S.C. Is there life technetium: what is the potential for developing new broad-based radionuclides? *Semin. Nucl. Med.*, 2: 119-131, 1996.

Tanaka, M., Karita, F. Effects of chronic iron deficiency anemia on brain metabolism. *Japanese J. Physiology.* 45, 257-263, 1995.

Tatala, M., Karita, F. Effects of chronic iron deficiency anemia on brain metabolism. *Japanese J. Physiology.* 45, 257-263, 1995.

The micronutrient Initiative. Overview of Micronutrient Malnutrition. Web Page, 1995. Available at: www.idre.ea/mi/overview.htm.

Thurman, J.D., Bucci, T.J., Flart, R.W. & Turturro, A. Survival, body weight, and spontaneous neoplasms in ad libitum – fed and food-restricted Fischer 344 rats. *Toxicol Pathol*; 22: 1-9, 1994.

Moura EG, Passos MCF, Bernardo-Filho M, Mattos DMM, Ramos CF.
VII SIMPÓSIO REGIONAL DE BIOFÍSICA E II ENCONTRO NACIONAL
DE BIOCIÊNCIAS NUCLEARES. Influência da desnutrição protéica na
lactação sobre a distribuição de ⁹⁹Tecnécio em ratos adultos desnutridos, 23 à
26 de Novembro de 1999.

Wiggins, R. C., Fuller, G. and Enna, S. J. Life Sciences, 35: 2085-2094, 1984.

Winick, M. and Rosso, P. Pediatric Research, 3: 181-1874, 1969.

Yepes, R., Esteves. E. El hierro em la alimentacion del hombre: fundamentos
bioquímicos, clínicos y epidemiológicos. Universidade Central del Ecuador.
Faculdade de Ciências Médicas. Quito, 224p. 1987.

Yu BP, Masoro EJ & McMahan CA. Nutritional influence of aging of fischer
344 rats: I Physical, metabolic, and longevity characteristics. J. Gerontol; 40:
657-670, 1985.