

# ESTUDOS BIOLÓGICOS DO $^{99m}\text{Tc}$ -METOXI ISOBUTIL ISONITRILA (MIBI) EM MODELOS ONCOLÓGICOS

Bluma L. Faintuch; Maria Aparecida T.M. de Almeida; Olga G. Carvalho; Elaine B. Araújo; Emiko Muramoto

Departamento de Radiofarmácia  
Comissão Nacional de Energia Nuclear  
Instituto de Pesq. Energéticas e Nucleares  
Travessa R, 400 - Cid. Universitária  
05508-900 São Paulo, SP, Brasil

## ABSTRACT

The scanning of solid tumors with the help of radioactive isotopes is a well-accepted procedure, useful in the diagnosis and staging of malignant diseases. MIBI- $^{99m}\text{Tc}$  is a tracer endowed with chemical and biological properties that recommend it for various purposes it has been used in the study of myocardial perfusion, as well as in the imaging of benign and malignant lesions of lungs, thyroid and bones. Yet, there is little experience with this compound in intraperitoneal and abdominal cancer. In the present investigation this drug was tested in two oncologic models, respectively a solid and an ascitic rat tumor.

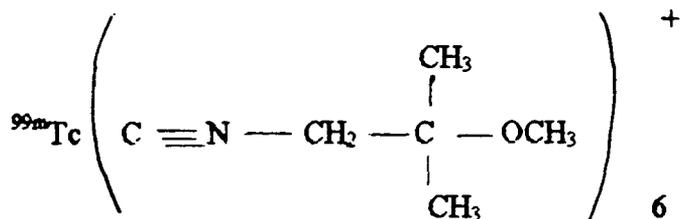
## INTRODUÇÃO

O mapeamento de tumores sólidos com auxílio de isótopos radioativos constitui-se num procedimento de grande utilidade para o diagnóstico e o estadiamento destas enfermidades malignas. Dentre os marcadores recentemente preconizados com esta finalidade destaca-se o MIBI- $^{99m}\text{Tc}$ .

### Características Químicas

O precursor do MIBI- $^{99m}\text{Tc}$  é o composto  $[\text{Cu}(\text{MIBI})_4]\text{BF}_4$  branco, lipofílico, cristalino, facilmente solúvel em acetona, clorofórmio, etanol, metanol, moderadamente solúvel em água e insolúvel em dietil eter, pentano, heptano e ciclohexano. O ponto de fusão deste sal é de  $99,5^\circ$  a  $100,5^\circ \text{C}$ .

O sal do MIBI após ser marcado com  $\text{Tc-}^{99m}$  forma um complexo catiônico, lipofílico de  $\text{Tc-}^{99m}$  com 6 moléculas de 2 metoxi isobutil isonitrila, com a seguinte fórmula estrutural



### Propriedades Biológicas

Os primeiros estudos sobre o desenvolvimento do MIBI- $^{99m}\text{Tc}$  foram realizados como agente de imagem miocárdica, mostrando a sua aplicação clínica com vantagens sobre o  $\text{Tl-}^{201}$  [1].

Os primeiros estudos sobre o desenvolvimento do MIBI-<sup>99m</sup>Tc foram realizados como agente de imagem miocárdica, mostrando a sua aplicação clínica com vantagens sobre o Tl-201 [1]. Entre estas vantagens está a meia vida curta, possibilitando com que injeções de 20-30 mCi não excedam os limites de dosimetria. Por outro lado, conseguem-se imagens mais contrastadas e de maior densidade.

Além dos trabalhos realizados com o MIBI-<sup>99m</sup>Tc na área cardíaca, alguns têm sido realizados na visualização de lesões benignas e malignas, principalmente de pulmões [2], tireóide [3] e ossos [4]. Todavia, é escassa a experiência com câncer peritoneal ou intra-abdominal.

No presente trabalho realizamos primeiramente a pesquisa em condições experimentais em ratos *Wistar*, definindo-se o modelo tumoral a ser utilizado.

Optou-se por um clone tumoral que fosse bem conhecido e estudado tanto a nível internacional como em nosso meio e que se prestaria adequadamente para as averiguações pretendidas. Por essas razões, decidiu-se especificamente pela escolha do carcinossarcoma de Walker 256.

O tumor de Walker é um carcinossarcoma mamário de rato, identificado por George Walker em 1928. É carcinoma pela justaposição de células na histologia. É sarcoma pela ocorrência de células fusiformes em associação com fibrilas reticulares [5].

Seu rápido crescimento com queda do estado geral e mortalidade relativamente precoce simula com perfeição diversas formas humanas de câncer, e sua extensa utilização em pesquisas oncológicas confirma o interesse do modelo para os estudos de diagnóstico isotópico.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Preparação dos Conjuntos Liofilizados (*kits*)

A partir do sal  $[\text{Cu}(\text{MIBI})_4]\text{BF}_4$  foram preparados 25 frascos, contendo cada um:

- 1,0 mg de  $[\text{Cu}(\text{MIBI})_4]\text{BF}_4$
- 0,075 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 1,0 mg de L-cisteína
- 2,6 mg de Citrato de sódio
- 20 mg de Manitol

Ajustou-se o pH entre 5 e 5,5, filtrou-se a solução em membrana millipore de  $0,22\mu$ , e liofilizou-se por 2 dias.

### Marcação do $[\text{Cu}(\text{MIBI})_4]\text{BF}_4$ com Tc-<sup>99m</sup> e Determinação da Pureza Radioquímica

Procedeu-se à marcação, adicionando-se ao frasco liofilizado de MIBI, 2 ml de solução de pertecnetato de sódio ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ) com atividade de aproximadamente de 37 MBq/ml (1 mCi/ml). O frasco era agitado e colocado em banho-maria de água fervente por 10 minutos. Deixava-se a seguir voltar a temperatura ambiente (15 minutos). Filtrava-se em membrana millipore  $0,22\mu$ .

O controle radioquímico do produto marcado foi realizado utilizando-se placas de cromatografia de camada delgada plásticas, de óxido de alumínio, de 2,5 x 7,5 cm Baker Flex, onde semeamos uma gota de etanol a 1,5 cm da origem, mais 2 gotas do MIBI-<sup>99m</sup>Tc em etanol. Estas placas eram colocadas na estufa a 100°C antes de serem utilizadas e depois guardadas no dissecador. Após semearmos as gotas, deixava-se secando, aproximadamente 15 minutos também no dissecador.

O outro controle foi feito utilizando-se como suporte fitas de papel Whatman n°1 e como fase móvel a acetona. A radioatividade era avaliada em contador gama dotado de cristal de NaI (Tl) Abbot e determinado o Rf correspondente.

### **Implante Tumoral**

Sendo originário do Banco de tumores Christ Hospital Line, Arthur D. Little, EUA, o carcinossarcoma de Walker 256 foi mantido no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho.

Essa linhagem de carcinossarcoma foi cedida ao Laboratório de Metabologia Cirúrgica da Disciplina de Técnica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da USP, em 1981, e mantida, desde então, por sucessivas passagens alternadas em cavidade peritoneal e tecido subcutâneo em ratos *Wistar*.

A inoculação tumoral foi realizada mediante injeção, no tecido subcutâneo da região dorsal de 0,5 ml de uma solução de soro fisiológico, contendo  $2,5$  a  $3,0 \times 10^5$  células viáveis do tumor [6].

### **Distribuição Biológica do $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI**

Foram utilizados 6 animais para cada tempo (1,5,10,15,30,60,90 e 120 minutos). Os ratos foram anestesiados com uretana, pesados e 0,1 ml da solução do marcado foi injetada por via intravenosa. Os animais foram sacrificados após o tempo estabelecido e o sangue coletado em frascos heparinizados.

Retiraram-se os seguintes órgãos: rins, fígado, coração, pulmão, baço, estômago, intestino grosso e delgado, músculo esquelético e cérebro. Os materiais biológicos foram pesados e a radioatividade determinada.

A radioatividade presente nas amostras de sangue e plasma, associada, respectivamente à volemia e volume plasmático determinados, permitiu a determinação da porcentagem da dose administrada presente no sangue e plasma total de cada animal.

## **RESULTADOS**

### **Controle Radioquímico**

Após a marcação do MIBI com Tc- $^{99m}$  proveniente da solução de  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ , as análises cromatográficas realizadas nas fitas e solventes apropriados determinaram uma pureza radioquímica que variou de 94% para o *kit* elaborado em nosso Departamento a 98% para o *kit* da Cardiolite (Du Pont).

O desenvolvimento cromatográfico utilizando-se placas de Baker-Flex com solvente etanol e utilizando-se papel Whatman n.1 com solvente acetona determinou  $R_f=1$  para o complexo MIBI- $^{99m}\text{Tc}$ .

### **Estudos Biológicos em Ratos Sadios**

Na Tabela 1 encontram-se relacionados os resultados de captação do MIBI- $^{99m}\text{Tc}$  pelos diferentes órgãos e tecidos em ratos sadios. Os valores obtidos estão expressos em porcentagem da dose administrada presente por grama do órgão avaliado.

## **DISCUSSÃO**

No preparo dos *kits* liofilizados o uso de L-cisteína, e do citrato de sódio é para permitir a liberação do MIBI do sal de Cu para complexação com Tc.

A acumulação do MIBI em várias linhagens humanas de carcinoma já foi caracterizada *in vitro* [7], embora haja poucas informações sobre o mecanismo de captação celular. Acredita-se que a distribuição do MIBI no organismo seja função apenas do fluxo

sanguíneo, mas também de um transporte metabólico ativo. A nível miocárdico a cinética de acúmulo desta substância já está em parte elucidada [8].

Naturalmente diversos outros marcadores isotópicos tem merecido atenção dos laboratórios de pesquisa nos últimos anos

TABELA 1 - Biodistribuição do MIBI-<sup>99m</sup>Tc em Ratos Sadios (% da Dose Administrada por Grama do Órgão)

ORGÃO/ t	1 min	5 min	10 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
RINS	6,00±0,88	4,80±1,06	7,30±0,80	5,09± 0,53	6,00±0,46	6,00±1,04	4,30±1,10	6,70±1,27
FÍGADO	1,20±0,36	1,10±0,17	1,60±0,30	1,10±0,21	0,98±0,10	0,79±0,26	0,66±0,13	0,59±0,05
CORAÇÃO	2,50±0,45	2,09±0,08	3,00±0,24	2,68±0,34	2,68±0,39	2,80±0,67	2,36±0,20	3,10±0,11
PULMÃO	2,90±0,50	1,36±0,02	1,20±0,21	1,14±0,35	0,79±0,10	0,45±0,10	0,26±0,01	0,29±0,04
BAÇO	0,93±0,29	0,78±0,27	1,60±0,13	1,40±0,27	1,00±0,32	1,04±0,42	1,22±0,53	0,89±0,03
ESTÔMAG.	0,54±0,01	0,41±0,07	0,60±0,01	0,56±0,14	0,60±0,09	0,66±0,20	0,33±0,11	0,72±0,05
INT. GROS.	0,42±0,03	0,33±0,13	0,43±0,02	0,49±0,11	0,38±0,15	0,33±0,05	0,37±0,12	0,35±0,04
INT. DELG.	0,62±0,23	0,48±0,05	0,60±0,05	0,72±0,27	0,77±0,16	0,83±0,23	0,63±0,17	0,88±0,07
MUSCULO	0,24±0,07	0,32±0,03	0,35±0,03	0,20±0,07	0,42±0,10	0,44±0,21	0,49±0,00	0,21±0,07
CÉREBRO	0,04±0,01		0,04±0,00		0,02±0,00	0,02±0,01		0,02±0,00

O Gálio-67 revela-se vantajoso nos mapeamentos esqueléticos, mas se ressent de limitações na avaliação dos pulmões e gânglios linfáticos. O <sup>201</sup>Tl poderá vir a constituir-se numa alternativa para o seguimento de sarcomas ósseos, embora sua meia vida biológica longa retarde a obtenção de boas imagens.

No tocante ao Tc-99m Sestamibi já está demonstrado que sua excreção é predominantemente hepatobiliar e intestinal, porém a depuração urinária também adquire certa importância. Não há indícios de degradação, sendo o composto eliminado em forma inalterada.

Tampouco sucede ligação proteica no plasma, permitindo uma distribuição satisfatória pelas principais vísceras do organismo.

Na presente etapa da investigação não se encontram disponíveis as taxas relativas de captação tumor/sangue e tumor/vísceras digestivas. Entretanto estas determinações fazem parte dos objetivos do trabalho e constituirão a fase seguinte do estudo.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que o MIBI representa uma substância marcadora de fácil preparo e com propriedades químicas e biológicas vantajosas para a marcação de processos mórbidos benignos e malignos. Estas qualidades foram confirmadas em dois modelos experimentais no rato do carcinossarcoma de Walker 256.

## REFERÊNCIAS

1. WACKERS, F.J.T.; BERMAN, D.S.; MADDAHL, J.; WATSON, D.D.; BELLER, G.A.; STRAUSS, H.W.; BOUCHER, C.A.; PICARD, M.; HOLMAN, B.L.; FRIDRICH, R.; INGLESE, E.; DELALOYE, B.; DELALOYE, A.B.; CAMIN, L. AND McKUSICK, K. - Technetium-99m hexakis 2-metoxisobutyl isonitrile: human biodistribution, dosimetry,

- safety, and preliminary comparison to thallium-201 for myocardial perfusion imaging. J. Nucl. Med. 30: 301-311, 1989.
2. HASSAN, I.M.; SAHWEIL, A.; CONSTANTINIDES, C. et al. - Uptake and kinetics of Tc-99m hexakis 2-methoxy isobutyl isonitrile in benign and malignant lesions in the lungs. Clin. Nucl. Med. 14: 333-340, 1989.
  3. MULLER, S.T.; GUTH-TOUGELIDES, B.; CREUTZIG, H. - Imaging of malignant tumors with Tc-99m-MIBI SPECT (Abstract). J. Nucl. Med. 30: 945, 1987.
  4. CANER, B.; KITAPÇI, M.; UNLU, M.; ERBENGI, G.; ÇALIKOĞLU, T.; GOGUS, T.; BERDIK, C. - Technetium-99m-MIBI uptake in benign and malignant bone lesions: a comparative study with technetium-99m-MDP - J. Nucl. Med. 33: 319-324, 1992.
  5. MATTOS, M.C.F.I. - Carcinossarcoma 256 de Walker do rato - Anatomia patológica, presença e frequência de células neoplásicas no sangue circulante e caracteres microscópicos e ultra-estruturais da célula neoplásica no sangue circulante. São Paulo, 121p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciência Médica e Biológica de Botucatu, 1973.
  6. GOMES, M.C.C. - Desnutrição proteico-calórica, desenvolvimento corporal e crescimento do carcinossarcoma de Walker 256: Alterações metabólicas e morfológicas em ratos jovens. São Paulo, 1985./ Dissert-mestr. - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.
  7. DELMON-MOINGEON, L.I.; PIWNICA-WORMS D. VAN DEN ABEELE, A.D., et al. - Uptake of the cation hexakis (2-methoxyisobutylisonitrile) technetium-99m by human carcinoma cell lines in vitro. Cancer Res 50: 2198-2202, 1990.
  8. PIWNICA-WORMS, D.; KRONAUGE, J.F.; DELMON, L. et al. - Effect of metabolic inhibition on technetium-99m-MIBI kinetics in cultured chick myocardial cells. J. Nucl. Med. 31: 464-472, 1990.