



**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde

**Levantamento de dados clínicos e não clínicos do radiofármaco fluorestradiol (18 F) - FES-<sup>18</sup>F: contribuição para avaliação do risco referente à segurança e eficácia e para a elaboração de brochura do investigador**

**BEATRIZ INOCENCIO DE OLIVEIRA**

**Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde na Área de Concentração Medicina Nuclear e Radiofarmácia**

**Orientadora:  
Profa. Dra. Elaine Bortoleti de Araújo**

**São Paulo  
2022**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde

**Levantamento de dados clínicos e não clínicos do radiofármaco fluorestradiol (18 F) - FES-<sup>18</sup>F: contribuição para avaliação do risco referente à segurança e eficácia e para a elaboração de brochura do investigador**

**BEATRIZ INOCENCIO DE OLIVEIRA**

**Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde na Área de Concentração Medicina Nuclear e Radiofarmácia**

**Orientadora:  
Profa. Dra. Elaine Bortoleti de Araújo**

**São Paulo  
2022**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Como citar:

OLIVEIRA, B. I. d. ***Levantamento de dados clínicos e não clínicos do radiofármaco fluorestradiol (18 F) - FES-<sup>18</sup>F***: contribuição para avaliação do risco referente à segurança e eficácia e para a elaboração de brochura do investigador. 2022. 97 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo. Disponível em: <<http://repositorio.ipen.br/>> (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN, com os dados fornecidos pela autora.

Oliveira, Beatriz Inocencio de  
Levantamento de dados clínicos e não clínicos do radiofármaco fluorestradiol (18 F) - FES-18F: contribuição para avaliação do risco referente à segurança e eficácia e para a elaboração de brochura do investigador / Beatriz Inocencio de Oliveira; orientadora Elaine Bortoleti de Araújo. -- São Paulo, 2022.  
97 f.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde (Medicina Nuclear e Radiofarmácia) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2022.

1. Câncer de mama. 2. PET/CT. 3. Fluorestradiol. 4. Receptor de estrogênio. I. de Araújo, Elaine Bortoleti, orient. II. Título.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Autor:** Beatriz Inocencio de Oliveira

**Título:** Levantamento de dados clínicos e não clínicos do radiofármaco fluorestradiol (18 F) - FES-<sup>18</sup>F: contribuição para avaliação do risco referente à segurança e eficácia e para a elaboração de brochura do investigador

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde na Área de Concentração Medicina Nuclear e Radiofarmácia

Data: 29/11/2022

### Banca Examinadora

Profa. Dra. Elaine Bortoleti de Araújo                      Julgamento: Aprovada

**Instituição:** Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

Profa. Dra. Margareth Mie Nakamura                      Julgamento: Aprovada

**Instituição:** Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

Profa. Dra. Simone Odilia                                      Julgamento: Aprovada

**Instituição:** Universidade Federal de Minas Gerais

## **AGRADECIMENTOS**

A trajetória até a conclusão de um mestrado é permeada por desafios e obstáculos, culminando em um grande crescimento acadêmico e profissional. A conclusão de um trabalho desta magnitude se torna possível apenas por meio da contribuição direta ou indireta de diversas pessoas envolvidas no processo.

Primeiramente, faço reconhecimento e agradeço à minha orientadora Dra. Elaine Bortoleti de Araújo, cujos ensinamentos foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho, e com quem aprendi tanto.

Meus agradecimentos à Universidade de São Paulo, onde trilhei meu caminho acadêmico desde a graduação, e ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, uma instituição que desde o início do mestrado profissional me deu todo o suporte para que eu chegasse aqui.

Aos professores do mestrado profissional, que sempre demonstraram entusiasmo pelo ensino e nos motivaram a sermos melhores alunos, profissionais e indivíduos. Em especial, meus sinceros agradecimentos aos professores do Seminário Geral de Área, pela prestatividade e recomendações realizadas, que engrandeceram ainda mais este trabalho

À turma 2 do mestrado profissional, pelo apoio mútuo entre os colegas nos momentos cruciais.

Por fim, meus agradecimentos à família e aos amigos, que me acompanharam durante esta jornada, dando forças para conclusão deste trabalho.

## RESUMO

OLIVEIRA, B. I. d. 2022. ***Levantamento de dados clínicos e não clínicos do radiofármaco fluorestradiol (18 F) - FES-<sup>18</sup>F: contribuição para avaliação do risco referente à segurança e eficácia e para a elaboração de brochura do investigador.*** Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

No Brasil, segundo dados mais recentes, o carcinoma de mama representa 29,5 % das neoplasias malignas em mulheres, configurando como a neoplasia mais incidente exceto o câncer de pele não melanoma. Os carcinomas de mama são categorizados em subtipos quanto sua origem, histologia e aspectos moleculares, e cada um dos subtipos possuem diferentes fatores de risco associados, terapias indicadas e prognóstico da doença. A expressão dos receptores de estrogênio (RE) e progesterona (RP) compreendem os principais subtipos moleculares do carcinoma de mama, sendo que o RE é superexpresso em aproximadamente 70 % dos pacientes com câncer de mama. No momento do estadiamento e reestadiamento, é de extrema importância conhecer a situação das lesões quanto à expressão de RE, uma vez que esta é associada a um prognóstico mais favorável, por indicar a presença de lesões sensíveis ao tratamento hormonal. A imunohistoquímica é considerada como técnica padrão para avaliar a expressão do RE, com especificidade de aproximadamente 100 %, mas há potenciais obstáculos associados à técnica, como dificuldade de acesso à lesão no momento da biópsia, heterogeneidade do tumor quanto à expressão de RE e impraticabilidade de realização de múltiplas biópsias no caso de metástases. A tomografia por emissão de pósitrons (PET), uma técnica de imagem molecular não invasiva, combinada à tomografia computadorizada (CT), fornece imagens de alta resolução do corpo inteiro do paciente, e a caracterização da lesão dependerá de sua avidéz pelo radiofármaco empregado. Para pacientes com câncer de mama, o PET/CT pode ser empregado no diagnóstico de lesões características desta patologia, por meio do desenvolvimento de marcadores cujo alvo é específico e superexpresso nestes pacientes, como o RE. O radiofármaco emissor de pósitrons, fluorestradiol (18 F),

composto por uma molécula análoga ao estrogênio e conjugada a um átomo de  $^{18}\text{F}$ , se mostra promissor para a detecção de lesões RE+, uma vez que estudos clínicos comprovam a aplicabilidade deste radiofármaco, já aprovado para uso nos Estados Unidos e na França, no diagnóstico de lesões RE+ em pacientes com carcinoma de mama recorrente ou metastático. No Brasil, a regulamentação de radiofármacos segue as determinações da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 738/2022, que abre a possibilidade de comercialização de novos radiofármacos mediante registro ou notificação. Os requisitos e os documentos necessários para registro e notificação são diferentes, sendo a notificação um processo mais simplificado para introdução de novos radiofármacos no país. Com isso, este projeto visou a coleta de dados clínicos e não-clínicos do FES- $^{18}\text{F}$ , para subsidiar a elaboração do documento Brochura do Investigador (BI) e a contribuição para análise de eficácia e segurança do radiofármaco. Estes documentos são necessários, respectivamente, para implementação de estudo clínico com o FES- $^{18}\text{F}$  no Brasil, e para comercialização do radiofármaco mediante notificação. Adicionalmente, foi feita comparação entre os produtos aprovados para uso no exterior e o FES- $^{18}\text{F}$  produzido pelo IPEN, para verificar a equivalência entre os produtos. Os dados obtidos no levantamento da literatura cobrem os tópicos da brochura do investigador e poderão ser utilizados na confecção da BI futuramente. Para a análise de eficácia e segurança, os dados levantados corroboram a eficácia do FES- $^{18}\text{F}$  na detecção de lesões RE+, e indicam o baixo risco associado do FES- $^{18}\text{F}$  PET no diagnóstico de pacientes com câncer de mama metastático ou recorrente. Adicionalmente, a análise de equivalência sugere que o FES- $^{18}\text{F}$  produzido no IPEN é compatível com os produtos comercializados do exterior. Com isso, este trabalho contribui com os avanços para introdução deste radiofármaco inovador no Brasil, que pode proporcionar um diagnóstico personalizado aos pacientes com câncer de mama recorrente ou metastático.

Palavras-chave: câncer de mama, PET/CT, fluorestradiol, receptor de estrogênio

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Beatriz I. 2022. ***Survey of clinical and non-clinical data on the radiopharmaceutical  $^{18}\text{F}$ -fluoroestradiol -  $^{18}\text{F}$ -FES: contribution to risk assessment regarding safety and efficacy and to the elaboration of the investigator's brochure.*** Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

In Brazil, according to the most recent data, breast carcinoma represents 29.5 % of malignant neoplasms in women, constituting the most incident neoplasm, except for non-melanoma skin cancer. Breast carcinomas are categorized according to their origin, histology and molecular aspects, and each subtype has different associated risk factors, indicated therapies and disease prognosis. Estrogen receptor (ER) and progesterone (RP) expression comprise the main molecular subtypes of breast carcinoma, with estrogen receptor (ER) being overexpressed in approximately 70 % of breast cancer patients. In staging and restaging, it is extremely important to know the status of the lesions regarding the expression of ER, since this is associated with a more favorable prognosis, as it indicates the presence of lesions sensitive to hormone treatment. Immunohistochemistry is considered a standard technique to assess ER expression, with a specificity of approximately 100 %, but there are potential obstacles associated with the technique, such as difficulty in accessing the lesion at the time of biopsy, tumor heterogeneity regarding ER expression, and the impracticality of performing multiple biopsies in the case of metastases. Positron emission tomography (PET), a non-invasive molecular imaging technique, combined with computed tomography (CT), provides high-resolution full body images of the patient and the characterization of the lesion will depend on the avidity for the radiopharmaceutical used. For patients with breast cancer, PET/CT can be used in the diagnosis of lesions that are characteristic of this pathology, through the development of markers whose target is specific and overexpressed in these patients, such as the ER. The positron-emitting radiopharmaceutical,  $^{18}\text{F}$ -fluoroestradiol, is an analogous of estrogen conjugated to an  $^{18}\text{F}$  atom, and shows promise for the detection of ER+ lesions, since clinical studies prove the

applicability of this radiopharmaceutical, already approved for use in the United States and France in the diagnosis of ER+ lesions in patients with recurrent or metastatic breast carcinoma. In Brazil, the regulation of radiopharmaceuticals follows the determinations of the Resolution of the Collegiate Board of Directors (RDC) 738/2022, which opens the possibility of marketing new radiopharmaceuticals by registration or notification. The requirements and documents necessary for registration and notification are different, with notification being a more simplified process for introducing new radiopharmaceuticals in the country. Thus, this project aimed to collect clinical and non-clinical data of  $^{18}\text{F}$ -FES, to support the elaboration of the Investigator's Brochure (IB) and to propose a benefit-risk analysis of the radiopharmaceutical, regarding its efficacy and safety. These documents are necessary, respectively, for the implementation of a clinical study with  $^{18}\text{F}$ -FES in Brazil, and for the commercialization of the radiopharmaceutical upon notification. Additionally, a comparison was made between the products approved for use in other countries and the  $^{18}\text{F}$ -FES produced by IPEN, to verify the equivalence between the products. The data obtained in the literature survey cover the topics of the researcher's brochure for the preparation of the BI in the future. For the analysis of efficacy and safety, the data collected corroborate the effectiveness of  $^{18}\text{F}$ -FES in the detection of ER+ lesions, and indicate the low associated risk of  $^{18}\text{F}$ -FES PET in the diagnosis of patients with metastatic or recurrent breast cancer. Additionally, the equivalence analysis suggests that the  $^{18}\text{F}$ -FES produced at IPEN is compatible with products sold abroad. Thus, this work contributes to advances in the introduction of this innovative radiopharmaceutical in Brazil, which can provide a personalized diagnosis to patients with recurrent or metastatic breast cancer.

Key words: breast cancer, PET/CT, fluoroestradiol, estrogen receptor

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>11</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>16</b>
<b>3. CENÁRIO NACIONAL PARA REGISTRO DE NOVOS RADIOFÁRMACOS</b>	<b>17</b>
<b>4. DESENVOLVIMENTO METODOLÓGICO</b>	<b>23</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>25</b>
<b>5.1. Busca na Literatura</b>	<b>26</b>
<b>5.2. Descrição do Medicamento Experimental</b>	<b>27</b>
5.2.1. Mecanismo de Ação	27
5.2.2. Indicação diagnóstica do FES- <sup>18</sup> F	30
<b>5.3. Estudos Não Clínicos</b>	<b>35</b>
5.3.1. Estudos <i>In Vitro</i>	35
5.3.2. Farmacocinética e Metabolismo do Produto em Animais	36
<b>5.4. Efeitos em Humanos</b>	<b>43</b>
5.4.1. Farmacocinética e Metabolismo Do Produto em Seres Humanos	43
5.4.2. Segurança	47
5.4.3. Eficácia	50
<b>5.5. Produção de Fluorestradiol-18F (FES-<sup>18</sup>F)</b>	<b>70</b>
5.5.1. Obtenção de Flúor-18 e Marcação do FES- <sup>18</sup> F	72
5.5.2. Síntese de FES- <sup>18</sup> F	72

5.5.3. Controle de Qualidade do FES- <sup>18</sup> F e Equivalência Entre Produtos	78
<b>6. PROPOSTA DE ANÁLISE DE RISCO PARA RADIOFÁRMACOS</b>	<b>85</b>
<b>7. CONCLUSÃO</b>	<b>91</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>93</b>
<b>APÊNDICES</b>	<b>104</b>
<b>Apêndice A - Análise de eficácia e segurança do FES-<sup>18</sup>F</b>	<b>104</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CNEN - Comissão Nacional de Energia Nuclear

EMA - *European Medicines Agency*

FDG-<sup>18</sup>F – fludesoxiglicose (18 F)

FDA - *Food and Drug Administration*

FES-<sup>18</sup>F – fluorestradiol (18 F)

HER2 - *Human Epidermal growth factor Receptor 2* (receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2)

IHC - Imunohistoquímica

IN - Instrução Normativa

INCA - Instituto Nacional do Câncer

IPEN - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

PET - Tomografia por Emissão de Pósitrons

PET/CT - Tomografia por Emissão de Pósitrons associada à Tomografia Computadorizada

RE - receptor de estrogênio

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RH - receptor hormonal

SHBG - Globulina ligadora de hormônios sexuais

SUV - *Standard Uptake Value* (valor de captação padrão)

USP – *United States Pharmacopeia*

## 1. INTRODUÇÃO

Mundialmente, o câncer de mama é a neoplasia maligna mais incidente na população feminina (exceto pele não melanoma), com aproximadamente 2,3 milhões de novos casos diagnosticados no ano de 2020. Além disso, esta neoplasia é a quinta causa principal de mortalidade por câncer em todo o mundo, com 685.000 mortes em 2020 (SUNG et al., 2021).

No Brasil, segundo os dados mais recentes publicados pelo INCA, a taxa de mortalidade por câncer de mama foi de 14,23 por cada 100.000 mulheres em 2019, e estima-se que para cada ano do triênio 2020-2022 o câncer de mama será o segundo mais incidente, com 66.280 mil novos casos, ficando atrás do câncer de pele não melanoma, com 177 mil casos (INCA, 2019; INCA, 2020).

O advento da mamografia como método de rastreamento possibilitou o aumento na detecção de casos em estágios iniciais, resultando em um melhor prognóstico para o paciente. Com isso, as políticas de saúde pública direcionadas ao rastreamento do câncer de mama tem como objetivo a detecção precoce para diminuição da mortalidade e melhor direcionamento terapêutico. Outros métodos frequentemente empregados para diagnóstico de câncer de mama são radiografia, usada para controle no caso de achados provavelmente benignos, biópsia e estudo histopatológico para suspeita de malignidade (BLOWS et al., 2010).

Os tumores de mama podem ter origem nos tecidos epiteliais ou conjuntivos da mama, e são classificados de acordo com sua histologia como *in situ*, ou pré-invasivo (quando as células tumorais têm origem única), e invasivo (quando as células malignas atravessam a parede epitelial e penetram o tecido saudável que o circunda). Há ainda uma classificação em subtipos moleculares, de acordo com a expressão de receptores de estrogênio (RE), receptores de

progesterona (RP) e receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2), sendo que estes grupos diferem quanto ao grau, proliferação, expressão de determinados genes e expressão de receptores hormonais (ZUBAIR et al., 2021). A maioria dos carcinomas de mama são altamente heterogêneos, com diferentes aspectos histológicos e padrões moleculares, tornando o diagnóstico e o tratamento mais desafiadores (HARBECK et al., 2019).

Uma das características moleculares essenciais a ser analisada no momento do diagnóstico, e antes de dar início a uma nova abordagem terapêutica, se refere à expressão de RE e RP. Uma lesão RE+ indica um prognóstico mais favorável, melhor resposta à terapia endócrina, além de ser reconhecido como fator prognóstico do câncer de mama (LUMACHI et al., 2013). É estimado que aproximadamente 65-70% dos carcinomas de mama sejam RE+ (LIM et al., 2012; YERSAL et al., 2014) e, atualmente, a imunohistoquímica (IHC) é a técnica recomendada para avaliação da situação de receptores hormonais. A IHC é realizada com amostra obtida por biópsia ou punção aspirativa por agulha fina e, segundo guias internacionais, a presença de pelo menos 1% de células malignas que expressam RE é suficiente para determinar uma lesão como RE+ (ALISSON et al., 2020; NCCN, 2020; SENKUS et al., 2015). Embora tenha especificidade de aproximadamente 100%, a técnica apresenta desvantagens, especialmente para pacientes com carcinoma invasivo metastático, pois em uma única paciente pode haver heterogeneidade entre lesões quanto à expressão de RE e a expressão destes receptores pode mudar após tratamento, além de não ser prática a realização da biópsia de múltiplas lesões. Logo, para estas pacientes, a biópsia de uma lesão pode não representar fidedignamente a expressão de RE no restante das células malignas pelo organismo (VENEMA et al., 2016).

Para pacientes com carcinoma de mama metastático há então a necessidade de um método diagnóstico não invasivo capaz de analisar a expressão de RE no corpo inteiro, identificando pacientes que têm maior chance de se beneficiar da terapia endócrina. Neste cenário, o emprego da tomografia por emissão de pósitrons, com o uso do radiofármaco fluorestradiol (18 F) poderia superar os obstáculos citados e proporcionar um diagnóstico personalizado.

A tomografia por emissão de pósitrons combinada com a tomografia computadorizada (PET/CT) é uma modalidade de imagem não invasiva, capaz de avaliar atividades ao nível molecular e de fornecer imagens anatômicas detalhadas. Para tanto, é administrado ao paciente um radiofármaco, traçador composto de um radioisótopo emissor de pósitrons conjugado a uma biomolécula, que tem como alvo a alteração molecular a ser investigada.

$16\alpha$ -[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro- $17\beta$ -estradiol (FES- $^{18}\text{F}$ ) é um radiofármaco utilizado em exames PET/CT, sendo composto por uma molécula de estriol,  $17\beta$ -estradiol, conjugada a um átomo de  $^{18}\text{F}$  na posição  $16\alpha$ . O flúor-18 ( $^{18}\text{F}$ ) é o radioisótopo tradicionalmente usado para exames desta modalidade, pois apresenta propriedades favoráveis para a imagem PET, como 97% de decaimento  $\beta^+$ , baixa energia máxima do pósitron emitido (635 keV) e meia-vida de 109,7 min (BASU et al., 2011). Este radiofármaco apresenta propriedades químicas semelhantes ao estradiol endógeno, o principal e mais potente agonista de RE, o qual é superexpresso em aproximadamente 70% das pacientes que sofrem de câncer de mama primário (VAN KRUCHTEN et al., 2013). Logo, o FES- $^{18}\text{F}$  se mostra como um radiofármaco promissor para análise de expressão de RE em pacientes com carcinoma de mama.

Inúmeros estudos clínicos já foram publicados, suportando o uso de FES- $^{18}\text{F}$  para detecção de lesões RE+ em pacientes com câncer de mama (CHAE et al., 2019; DEHDASHTI et al., 2009; LINDEN et al., 2006; VAN KRUCHTEN et al., 2015), bem como revisões de literatura (EVANGELISTA et al., 2006; KURLAND et al., 2020; VAN KRUCHTEN et al., 2013). Além disso, atualmente, o FES- $^{18}\text{F}$  é aprovado para uso com fins diagnósticos na França e nos Estados Unidos, indicado para detecção de lesões RE+ em pacientes com carcinoma de mama recorrente ou metastático (CERIANNA, 2020; ESTROTEP, 2020).

No Brasil, considerando a relevância do carcinoma de mama como uma das principais causas de óbito por neoplasias malignas entre a população feminina, o emprego do exame de PET/CT com FES- $^{18}\text{F}$  poderia ter impacto na abordagem terapêutica de pacientes com carcinoma de mama metastático, aumentando sua sobrevida e qualidade de vida.

O Centro de Radiofarmácia do IPEN apresenta potencial para produção do radiofármaco FES- $^{18}\text{F}$  de forma rotineira. Para registro e comercialização deste

radiofármaco, considerado um radiofármaco “novo e inovador” no cenário nacional, será necessário levar em consideração as exigências apresentadas em Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC), publicadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), notadamente a RDC 09/2015 e a RDC 738/2022.

De acordo com a RDC 738/2022, deverá ser realizado estudo clínico para demonstrar a eficácia e segurança do novo radiofármaco para fins de registro (BRASIL, RDC 738 de 28 de julho de 2022). Segundo o artigo 38 da RDC 09/2015, que trata da realização de estudos clínicos para registro de novos medicamentos, a submissão do Dossiê de Desenvolvimento Clínico de Medicamento (DDCM) é requisito para realização de ensaios clínicos com novos medicamentos frente à Anvisa, e dentre os documentos que compõem tal dossiê encontra-se a Brochura do Investigador (BI). A BI, por sua vez, trata do compilado de dados clínicos e não clínicos sobre o medicamento em questão, que tenham relevância para o seu estudo em seres humanos e que forneça as informações relevantes à condução do estudo clínico, como formulação do medicamento, efeitos farmacológicos e toxicológicos, informações de segurança e eficácia em humanos, e possíveis eventos adversos associados a seu uso (BRASIL, RDC 09, 20 de fevereiro de 2015).

Com a publicação da RDC 451/2020, posteriormente atualizada na RDC 738/2022, foram criados também critérios para radiofármacos que estão sujeitos à isenção de registro. Dentre os critérios, não deve haver radiofármaco com IFA idêntico registrado na Anvisa, deve ser comercializado pronto para o uso, na sua forma radiomarcada, deve ser produzido em unidade produtora devidamente autorizada e licenciada pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), entre outros fatores, sendo necessária apenas a notificação por meio eletrônico no site da agência. Na prática, esta é uma oportunidade de comercialização e uso de radiofármacos novos, e até mesmo que não são registrados em outros países. Porém, mesmo com a perspectiva de comercializar novos radiofármacos mediante notificação, o pretendente deve encaminhar para a agência dados de segurança e eficácia do novo medicamento, como feito no levantamento realizado para a brochura do investigador, para subsidiar a produção mediante notificação.

## 2. OBJETIVOS

Este projeto tem como objetivo a coleta de dados necessários para a elaboração da Brochura do Investigador (BI) para o radiofármaco FES-<sup>18</sup>F. Este compilado de dados clínicos e não-clínicos do FES-<sup>18</sup>F é necessário como parte da documentação solicitada para o registro do radiofármaco junto à Anvisa.

Este projeto irá fornecer informações relevantes para definição do protocolo de ensaios clínicos a ser conduzido com o radiofármaco FES-<sup>18</sup>F produzido pelo IPEN, tais quais dosimetria, toxicologia, recomendação para uso, eficácia e segurança em seres humanos, e servirá como referência para os pesquisadores responsáveis pelos estudos. Paralelamente, os dados de eficácia e segurança obtidos da literatura poderão subsidiar a análise de risco necessária para comercialização do radiofármaco mediante notificação, representando importante contribuição para avaliação do risco referente à segurança e eficácia sobre o benefício do fornecimento deste radiofármaco no Brasil.

Nas referências pesquisadas, também serão analisadas a rota de síntese empregada para produção do FES-<sup>18</sup>F e os parâmetros de controle de qualidade relacionados, como pureza radioquímica e pureza química, por exemplo, a fim de estabelecer uma equivalência entre o produto já liberado para uso no exterior e o que será produzido em território nacional.

### 3. CENÁRIO NACIONAL PARA REGISTRO DE NOVOS RADIOFÁRMACOS

No Brasil, os primeiros passos para controle e fiscalização de radiofármacos foram estabelecidos com a publicação da lei nº 9782, de 26 de janeiro de 1999 (BRASIL, lei nº 9782, de 26 de janeiro de 1999). Porém, esta lei dispunha apenas do controle e fiscalização dos radioisótopos para uso diagnóstico *in vivo* e radiofármacos usados em diagnóstico e terapia, e ainda não existia regulamentação específica para o registro, boas práticas de fabricação destes produtos, bem como sua previsão legal como medicamentos. Com isso os radiofármacos não possuíam registro na Anvisa, e os fabricantes não tinham base legal que estabelecesse critérios de boas práticas de fabricação (VIEIRA et al., 2013)

Até o ano de 2006, a produção e comercialização de radiofármacos eram monopólio da União, e somente os Institutos ligados à Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), como o Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) realizavam estas atividades. Contudo, a crescente demanda de radiofármacos de meia vida curta (igual ou inferior a duas horas), que requerem a produção próxima ao local de administração, evidenciava a necessidade de descentralizar a produção de radiofármacos. Com isso, a aprovação da emenda constitucional nº 49, de 8 de fevereiro de 2006 (BRASIL, emenda constitucional nº 49, de 8 de fevereiro de 2006), a produção e comercialização de radiofármacos de meia-vida igual ou menor a duas horas deixou de ser do monopólio da União (VIEIRA et al., 2013)

Ainda assim, não haviam sido definidos os critérios para registro e boas práticas de produção de radiofármacos. O registro de radiofármacos no Brasil começou a ser regularizado a partir da publicação da RDC 64/09, 23 de dezembro de 2009 (BRASIL, RDC 64 de 18 de dezembro de 2009) a qual reconheceu esta

classe de medicamentos no país. Segundo esta RDC, radiofármacos foram classificados como preparações farmacêuticas com finalidade diagnóstica ou terapêutica que, quando prontas para o uso, contêm um ou mais radionuclídeos. No mesmo ano foi publicada a RDC 63/2009 (BRASIL, 63 de 18 de dezembro de 2009) a qual dispunha sobre as boas práticas de fabricação de radiofármacos. Com a publicação destas resoluções foi estabelecido prazo de dois anos para que as empresas passassem a seguir os critérios de boas práticas de fabricação e os critérios mínimos de eficácia e segurança para os radiofármacos (VIEIRA et al., 2013).

A RDC 64/2009 contemplou diversos aspectos relacionados aos setores que manipulam, fabricam ou fazem uso de radiofármacos. Dentre outras medidas, a resolução estabeleceu critérios para a realização de estudos clínicos com radiofármacos e tornou obrigatória a descrição de características físico-químicas, composição do radiofármaco, meia-vida, propriedades e toxicologia no pedido de registro, além da apresentação de relatórios de farmacovigilância pelos produtores. A resolução ainda abrangia a seleção e a capacitação dos trabalhadores, a liberação de lotes para uso e os requisitos relacionados às instalações físicas (especialmente radioproteção, condições de limpeza e esterilidade) e aos equipamentos usados durante os procedimentos (BRASIL, RDC 64 de 18 de dezembro de 2009).

Embora a RDC 64/2009 tenha representado um marco para o setor de medicina nuclear no país, as empresas e órgãos deste setor exigiam a flexibilização de requisitos regulatórios a fim de facilitar a entrada de novos radiofármacos no mercado brasileiro.

Tendo em vista a relevância desta questão para o setor e a necessidade de atualização das normas vigentes, foram realizadas consultas públicas nº 703, 704 e 705, de 28/08/2019, para debater propostas de revisão da RDC 64. Este processo culminou na aprovação pela Anvisa da RDC 451, de 16 de dezembro de 2020 (BRASIL, RDC 451 de 16 de dezembro de 2020) a qual dispõe sobre o registro, notificação, importação e controle de qualidade de radiofármacos, e que revoga a RDC 64/2009. Mais recentemente, a RDC 451/2020 foi atualizada na RDC 738/2022.

Adicionalmente à publicação da RDC 451/2020, foram publicadas as instruções normativas IN nº 80/2020, que regulamenta a documentação necessária para o protocolo de registro de radiofármaco, e IN nº 81/2020, que regulamenta a lista de radiofármacos passíveis de apresentarem dados de literatura para comprovação da segurança e eficácia, ainda vigentes. As instruções normativas definem de forma mais clara as atividades e produtos relacionados ao setor de radiofármacos e que são controlados pela Anvisa.

Dentre as mudanças trazidas com a publicação da RDC 451/2020, conservadas na RDC 738/2022, a principal está relacionada aos objetivos da norma, que são mais abrangentes se comparados à legislação anterior, uma vez que a legislação se aplica ao registro, notificação, importação e controle de qualidade de radiofármacos. Além disso, houve a revisão de alguns conceitos e inclusão de termos, como decaimento radioativo, eluato de gerador de radionuclídeo, insumo farmacêutico ativo (IFA), precursor radiofarmacêutico, radiofármaco novo, radiofármaco pronto para o uso e serviço de medicina nuclear (BRASIL, RDC 738 de 28 de julho de 2022).

A principal mudança acarretada com a RDC 451/2020 e que permaneceu na RDC 738/2022, foi a determinação de radiofármacos que estão sujeitos à isenção de registro, sendo necessária apenas a notificação por meio do peticionamento eletrônico no site da ANVISA. Conforme o artigo 6º da RDC 738/2022, para que seja possível isentar um radiofármaco de registro e regularizá-lo apenas mediante notificação, foram determinados os seguintes requisitos:

- I - não deve haver radiofármaco com IFA idêntico registrado na Anvisa;
- II - deve ser comercializado pronto para o uso, na sua forma radiomarcada;
- III - deve ser produzido mediante prescrição por profissional legalmente habilitado, para paciente(s) específico(s);
- IV - a produção não deve ultrapassar 100 prescrições por radiofármaco, por semana, por unidade produtora;
- V - não deve existir medicamento registrado na Anvisa, com finalidade diagnóstica ou terapêutica equivalente, disponível no mercado;

VI - deve ser produzido no Brasil em unidade produtora que possua Licença de Funcionamento e Autorização de Funcionamento para Fabricar Medicamentos;

VII - deve ser produzido em unidade produtora que possua Certificado de Boas Práticas de Fabricação para a linha na qual o radiofármaco é produzido;

VIII - deve ser produzido em unidade produtora devidamente autorizada e licenciada pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN); e

IX - a unidade produtora do radiofármaco deve possuir laboratório de controle de qualidade próprio, devidamente equipado para realizar os ensaios necessários para a liberação do radiofármaco.” (BRASIL, RDC 738 de 28 de julho de 2022);

A RDC 738/2022 estabelece também que o controle de qualidade para liberação do radiofármaco deve seguir integralmente a monografia farmacopeica, conforme descrito no artigo 7º. Caso não haja monografia farmacopeica vigente, a metodologia deve ser fundamentada em literatura científica e a não execução de determinada metodologia, em virtude de particularidades do radiofármaco, deve ser científica e tecnicamente justificada (BRASIL, RDC 738 de 28 de julho de 2022).

Na notificação de radiofármacos isentos de registro deve ser apresentada, dentre outros documentos, a avaliação de risco, referente à segurança e eficácia, sobre o benefício do fornecimento do radiofármaco e a avaliação de risco referente à qualidade, processo produtivo e controle de qualidade do radiofármaco (BRASIL, RDC 738 de 28 de julho de 2022).

No caso de radiofármacos que não se enquadram nos requisitos de regularização via notificação, a legislação indica a necessidade de solicitação de registro frente à Anvisa. Conforme descrito no capítulo IV, dentre os requisitos estabelecidos para o registro de radiofármacos, as apresentações devem estar de acordo com o regime posológico e a indicação terapêutica e/ou diagnóstica do radiofármaco, além de apresentarem todos os documentos previstos na IN nº 80/2020, ou outra que vier a substituí-la. Adicionalmente, segundo o artigo 16º, todas as indicações terapêuticas ou diagnósticas do radiofármaco solicitadas no registro devem estar documentalmente demonstradas nos relatórios dos estudos

clínicos apensados ao dossiê de registro, e os estudos clínicos devem ser conduzidos com o radiofármaco apresentado para o registro (BRASIL, RDC 738 de 28 de julho de 2022).

Todas as pesquisas clínicas conduzidas com radiofármaco no Brasil devem ter autorização prévia da Anvisa. De acordo com a legislação sanitária vigente, o desenvolvimento de ensaios clínicos é, por sua vez, regulamentado pela RDC 9/2015. Esta resolução tem como objetivo a definição dos procedimentos e requisitos para realização de ensaios clínicos com medicamentos, incluindo a submissão do Dossiê de Desenvolvimento Clínico de Medicamento (DDCM) a ser aprovado pela Anvisa (BRASIL, RDC 09 de 20 de fevereiro de 2015).

O DDCM é um compilado de documentos a ser submetido à Anvisa com a finalidade de se avaliar as etapas inerentes ao desenvolvimento de um medicamento experimental, e entre os documentos do dossiê temos a Brochura do investigador (BI). A BI é composta de dados clínicos e não clínicos sobre o medicamento experimental, que tenham relevância para o seu estudo em seres humanos, e tem como objetivo fornecer aos investigadores informações relativas à dose, regime posológico, métodos de administração e procedimentos de monitoramento de segurança, de forma a orientá-los quanto à condução do ensaio clínico (BRASIL, RDC 09 de 20 de fevereiro de 2015).

A BI contém uma descrição do medicamento experimental; formulação; efeitos farmacológicos e toxicológicos do medicamento experimental em animais e em seres humanos; informações de segurança e eficácia em humanos obtidos a partir de ensaios clínicos já realizados; e possíveis riscos e eventos adversos relacionados ao medicamento experimental, baseados em experiências anteriores. Deve também explicitar a descrição dos possíveis riscos e eventos adversos relacionados ao medicamento experimental, precauções, alertas de segurança ou acompanhamentos especiais, a serem seguidos durante o desenvolvimento. De forma geral a BI deve apresentar os dados já conhecidos e relevantes a respeito do medicamento em investigação, os resultados disponíveis dos estudos não clínicos e clínicos, e também os estudos em andamento e seus dados preliminares, quando existirem (BRASIL, RDC 09 de 20 de fevereiro de 2015).

Os dados que compõem a BI também poderão ser úteis para a análise de risco do FES-<sup>18</sup>F, pois mesmo no caso da regularização do radiofármaco por meio de notificação ainda é necessária a apresentação de dados que comprovem sua eficácia e segurança.

Em abril de 2022, foi promulgada a emenda constitucional 118 (BRASIL, emenda constitucional 118 de 24 de abril de 2022), que possibilitou a quebra do monopólio do poder público, e permitiu a fabricação pela iniciativa privada de todos os tipos de radioisótopos de uso médico. O monopólio estatal continua para a produção de radioisótopos para uso na agricultura e indústria.

Até então, a iniciativa privada possuía aval apenas para produzir radioisótopos de vida curta sob regime de permissão, e a produção do restante dos radioisótopos de uso médico era de monopólio público. A quebra completa do monopólio possibilitará a entrada de novos produtores privados no mercado de radiofármacos no Brasil.

#### 4. DESENVOLVIMENTO METODOLÓGICO

Foi realizada a busca nas bases PubMed, Embase, Web of Science e Cochrane para coleta de artigos, estudos clínicos e pesquisas clínicas relacionados ao uso de FES-<sup>18</sup>F no diagnóstico de câncer de mama com expressão de receptor de estrogênio. Para tanto, foi usada uma ou mais combinações dos seguintes termos: "Positron Emission Tomography Computed Tomography", "Positron- Emission Tomography", "PET CT", "breast neoplasms", "breast cancer", "receptors, estrogen", "estrogen receptor", "Neoplasm Metastasis", "16-fluoroestradiol", "fluoroestradiol", "16alpha-(18F)fluoro-17beta-estradiol" e "(18F)FES". A base ClinicalTrials.gov foi utilizada para busca por estudos clínicos em andamento ou completos, até outubro de 2021, usando os termos "breast cancer", "fluoroestradiol" e "FES PET".

Os resultados foram avaliados quanto sua relevância, e a lista de referências dos artigos selecionados também foi verificada para inclusão de literatura adicional. Foram selecionados artigos escritos em inglês e português, publicados entre novembro de 1984 e agosto de 2021.

No processo de triagem foi avaliado inicialmente o resumo dos artigos para verificação dos critérios de exclusão. Os critérios de exclusão foram: uso de FES-<sup>18</sup>F para o diagnóstico de outras patologias que não o câncer de mama; artigo escrito em outro idioma que não inglês ou português; não haver menção de "FES", "fluoroestradiol" ou similares no corpo do resumo; artigo ser um comentário, resposta ou carta aberta.

Por último, foi realizada a busca de literatura cinzenta pertinente à elaboração da dissertação, como teses e dissertações, bula das apresentações comerciais disponíveis do FES-<sup>18</sup>F em países onde seu uso foi

aprovado e documentos governamentais que tratam do regulamento de radiofármacos no Brasil.

Após o levantamento de bases de dados e triagem dos artigos, foi realizada a análise e compilação dos dados. Por último, foi realizada busca para metodologias de análise de eficácia e segurança, para subsidiar tal análise que é requisito tanto para registro de novos radiofármacos quanto para sua comercialização mediante notificação.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1. BUSCA NA LITERATURA**

Foram selecionados 112 artigos considerados relevantes para a confecção da dissertação (tabela 1). Os tipos de artigos científicos selecionados incluem artigos de pesquisa original, relatos de casos, artigos de revisão narrativa e revisões sistemáticas. As informações dos artigos elegíveis foram compiladas em uma tabela, incluindo as categorias: autores, ano de publicação, título, objetivo, grupos (se aplicável), metodologia e conclusões.

Uma vez terminado este processo foi iniciada a elaboração da dissertação e compilação dos dados para estruturação da BI. A dissertação foi estruturada de acordo com os tópicos relacionados à brochura do investigador, sendo estes: propriedades físicas, químicas e farmacêuticas e formulação; estudos não clínicos; e efeitos em humanos.

Deste modo, os estudos clínicos que cobrem tópicos como farmacocinética e metabolismo do produto em seres humanos, segurança e eficácia, serviram de base para o item efeitos em humanos. Os estudos não clínicos por sua vez, compreendem farmacologia não clínica e farmacocinética, metabolismo, toxicologia e dosimetria do produto em modelos animais. Por último, os artigos que tratam da radiosíntese de FES-<sup>18</sup>F descrevem propriedades físicas, químicas e farmacêuticas e formulação. Os artigos desta categoria também mencionam técnicas de purificação, níveis de rendimento e pureza radioquímica e testes de estabilidade.

**Tabela 1 - Resultado da busca bibliográfica realizada para o radiofármaco FES-<sup>18</sup>F com foco na elaboração da BI: número de trabalhos por categoria do estudo.**

Categoria do estudo	Número de resultados encontrados
Estudos clínicos	64
Estudos não clínicos	17
Radiossíntese de FES- <sup>18</sup> F	20
Artigos de revisão	11

## **5.2. DESCRIÇÃO DO MEDICAMENTO EXPERIMENTAL**

### **5.2.1. MECANISMO DE AÇÃO**

O 16 $\alpha$ -[<sup>18</sup>F]fluoro-17 $\beta$ -estradiol (FES-<sup>18</sup>F) é um radiofármaco utilizado em exames PET/CT, sendo composto por uma molécula de estriol, 17 $\beta$ -estradiol, conjugada a um átomo de <sup>18</sup>F na posição 16 $\alpha$ . O estradiol é o agonista endógeno com maior afinidade aos receptores de estrogênio. Logo, o desenvolvimento de radiofármacos para avaliação de RE focou-se na radiomarcagem de estradiol e estruturas análogas (KATZENELLENBOGEN et al., 2021). O FES possui entre 60 e 100% de afinidade de ligação ao RE e neste contexto, é o análogo melhor caracterizado e que possui mais estudos clínicos que suportam seu uso (VAN KRUCHTEN et al., 2013).

O estradiol é altamente lipofílico, e na circulação encontra-se ligado à globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG) com alta afinidade e baixa capacidade, e à albumina com baixa afinidade e alta capacidade. Ele exerce seu efeito fisiológico através da ligação ao RE, um receptor nuclear que é expresso em diversos tecidos, sendo os mais relevantes a mama, o útero, os ovários e a glândula pituitária.

O RE atua como um fator de transcrição e, uma vez ativado por meio da ligação do estrogênio, ocorre uma mudança conformacional no receptor, o que por sua vez resulta na dimerização com outros receptores nucleares. Com isso, ocorre a ativação dos genes responsivos ao estrogênio, que estimulam o crescimento e proliferação de células (figura 1). O receptor de estrogênio pode se apresentar como duas isoformas distintas estruturalmente e funcionalmente, RE $\alpha$  e RE $\beta$ , codificadas por dois genes diferentes, *ESR1* e *ESR2*, respectivamente. O RE $\alpha$  é o subtipo mais prevalente no epitélio mamário, e exerce um papel importante tanto na fisiologia mamária quanto na progressão do carcinoma de mama, uma vez que estrógenos atuam como fatores de crescimento para as células da mama (YIP et al., 2014).

Assim como o estradiol, a ação do FES-<sup>18</sup>F se dá através da ligação ao RE. Em ratos, a alta seletividade de ligação de FES-<sup>18</sup>F à tecidos ricos em RE, como o útero, e a diminuição na captação uterina quando há co-injeção de estradiol, demonstraram que FES-<sup>18</sup>F se liga de forma específica ao RE (KIESEWETTER et al., 1984).

Em experimentos realizados com camundongos Nude machos implantados com adenocarcinoma derivado de ovário RE+, a administração de FES-<sup>18</sup>F com estradiol, ligante de ambos subtipos de RE $\alpha$  e  $\beta$ , resultou na redução da captação tumoral de FES-<sup>18</sup>F. No entanto, a co-administração do radiofármaco com genisteína, um agonista de RE $\beta$ , não afetou de forma significativa a captação de FES-<sup>18</sup>F (ANTUNES et al., 2017).

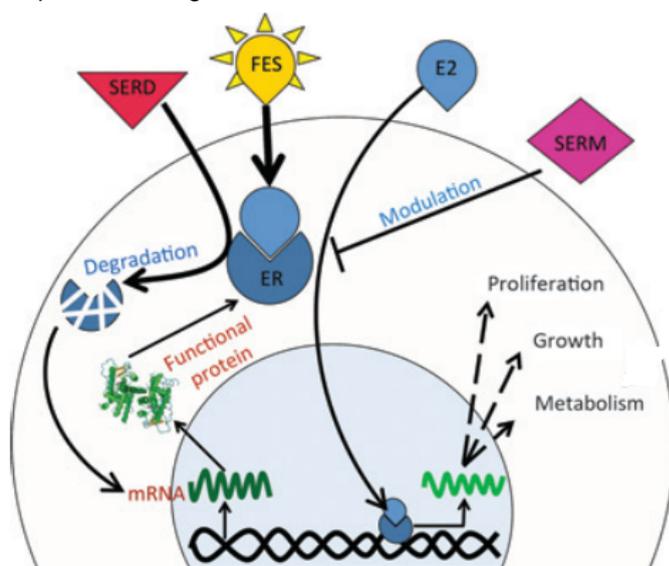
Em estudo de PAQUETTE et al. (2012), camundongos *Balb/c* foram implantados com adenocarcinoma mamário murino RE+ (MC7-L1) ou carcinoma de mama murino RE $\alpha$  negativo (MC4-L2). Foi observada captação específica de FES-<sup>18</sup>F no primeiro, enquanto a captação esteve ausente em no segundo grupo, com tumor *knockdown* para RE $\alpha$ . Assim, a comparação entre captação de FES-<sup>18</sup>F em tumor RE+ e tumor RE $\alpha$ - em camundongos demonstrou forte correlação entre a captação do radiofármaco e a situação RE $\alpha$  do tumor.

No estudo de YOO et al. (2005), a afinidade de ligação de FES-<sup>18</sup>F foi determinada por meio de ensaio de ligação competitiva com [<sup>3</sup>H]estradiol, utilizando RE $\alpha$  e RE $\beta$  humanos purificados. Foi observado que a afinidade de ligação do FES-<sup>18</sup>F é relativamente alta para os subtipos RE $\alpha$  e RE $\beta$ , estando na

faixa nanomolar. Além disso, FES-<sup>18</sup>F mostrou afinidade absoluta 6,3 vezes maior para RE $\alpha$  em comparação ao RE $\beta$ .

Neste estudo também foram realizados experimentos com camundongos *Balb/c knockout* para RE $\alpha$  ou RE $\beta$ . O modelo *knockout* para RE $\alpha$  foi criado a partir da disrupção do gene responsável pela expressão de RE $\alpha$ , sendo que o RE $\beta$  permanece funcional no animal. Inversamente, o modelo *knockout* para RE $\beta$  foi criado utilizando método semelhante de modificação genética, e preservando a função do RE $\alpha$ . A análise de biodistribuição de FES-<sup>18</sup>F nestes modelos mostrou que a captação de FES-<sup>18</sup>F foi maior em camundongos *knockout* para RE $\beta$ .

**Figura 1 - Representação esquemática do RE em uma célula de câncer de mama, o efeito de terapias que tem o RE como alvo e a interação de <sup>18</sup>F-FES na célula tumoral.** Legenda: E2 - estradiol; ER - receptor de estrogênio; FES - Fluorestradiol; SERD - degradador seletivo do receptor de estrogênio; SERM - moduladores seletivos do receptor de estrogênio.



Fonte: HEIDARI et al. (2015), adaptado.

Estudos com terapias direcionadas ao RE também corroboram a ligação específica de FES-<sup>18</sup>F ao RE. Em estudo com ratos fêmeas imaturas houve diminuição significativa de captação de FES-<sup>18</sup>F em tecidos-alvo após pré-tratamento com tamoxifeno, um modulador seletivo de RE (KATZENELLENBOGEN et al., 1993). Estudos com modelo de câncer de mama metastático de camundongo (linhagem de adenocarcinoma MC7), mostraram que a absorção de FES-<sup>18</sup>F se correlaciona à alterações dependentes da dose de fulvestrant, um degradador seletivo do RE (HE et al., 2016; HEIDARI et al., 2015).

A relação entre captação de FES-<sup>18</sup>F e expressão de RE foi observada no estudo de HEIDARI et al. (2015), no qual as imagens PET com FES-<sup>18</sup>F e FDG-<sup>18</sup>F foram utilizadas para monitorar a situação RE e resposta ao fulvestranto em modelo animal. Xenoenxertos de células MCF7 (linhagem de adenocarcinoma de mama humano RE+) foram implantados em camundongos Nude ovariectomizados, que foram divididos em grupos de acordo com a dose de fulvestranto administrada, e 2 dias após tratamento foi realizada imagem PET/CT com FES-<sup>18</sup>F. Também foram realizados estudos *in vitro* de retenção de FES-<sup>18</sup>F, após a incubação de células MCF7 com doses de diluição em série de fulvestranto por 24 horas, e análise de expressão de RE nos xenoenxertos.

Na análise *ex vivo* dos xenoenxertos MCF7, removidos 48 horas após tratamento, a expressão de RE $\alpha$  exibiu alterações significativas dependentes de dose com o tratamento com fulvestranto. Adicionalmente, nos experimentos *in vitro* e *in vivo* foi observado que a captação de FES-<sup>18</sup>F espelhou as alterações dependentes da dose de fulvestranto na expressão funcional do RE.

No estudo de HE et al. (2016), a captação de FES-<sup>18</sup>F foi mensurada em camundongos fêmeas inoculadas com xenoenxerto de modelo de câncer de mama metastático ZR-75-1, aleatoriamente designadas para tratamento com fulvestranto ou grupo de veículo. Os dados de captação do radiofármaco foram correlacionados com o volume tumoral e os níveis de RE $\alpha$ . Adicionalmente, amostras de tecido tumoral foram analisadas quanto à expressão de RE $\alpha$  por meio de IHC.

Foi observado que fulvestranto inibiu significativamente o crescimento tumoral no modelo estudado, e a captação de FES-<sup>18</sup>F do tumor no grupo fulvestranto foi menor em comparação com o grupo veículo. As alterações na captação de FES-<sup>18</sup>F ocorreram antes de alterações mensuráveis no tamanho do tumor. Além disso, houve uma correlação positiva significativa entre a captação de FES-<sup>18</sup>F e a expressão de RE $\alpha$ .

Cumulativamente, os estudos citados indicam que a captação de FES-<sup>18</sup>F é dependente de RE $\alpha$ .

### 5.2.2. INDICAÇÃO DIAGNÓSTICA DO FES-<sup>18</sup>F

O câncer de mama é uma patologia heterogênea, possível de ser classificada em subtipos de acordo com histologia, tamanho do tumor, características moleculares, expressão genética, entre outros fatores, sendo que o prognóstico e opções de tratamento estão fortemente relacionados a tais características. Aproximadamente 99% dos tumores de mama têm origem nas células epiteliais da mama, especificamente nos lóbulos ou nos ductos terminais, caracterizando assim um carcinoma. Em menor proporção, temos os sarcomas, tumores com origem em tecidos conjuntivos que permeiam os lóbulos e ductos (ZUBAIR et al., 2021). Quanto às características histológicas dos carcinomas, podemos ainda os subdividir em *in situ* (quando as células tumorais têm origem única), e invasivo (quando as células malignas atravessam a parede epitelial do ducto e penetram o tecido saudável que o circunda).

No que diz respeito às características moleculares da doença, a expressão de receptor de estrogênio (RE), receptor de progesterona (RP) e receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2), possibilitou a categorização dos carcinomas de mama em 4 subtipos: luminal A (RE+/PR+/HER2+), luminal B (RE+/PR+/HER2-), HER2 positivo e triplo-negativo (quando não há expressão de nenhum dos 3 marcadores) (HARBECK et al., 2019; ZUBAIR et al., 2021).

O receptor de estrogênio foi um dos primeiros biomarcadores a ser associado ao câncer de mama e, após o diagnóstico inicial de estadiamento da doença, a determinação da situação RE é a avaliação mais importante para determinar o planejamento diagnóstico dos pacientes. Um tumor RE+ pode expressar genes responsivos a RE, RP, e outros genes que codificam proteínas típicas de células epiteliais luminais, e por isso constituem o subtipo luminal. Este, por sua vez, é o subtipo mais comum de câncer de mama, sendo que o luminal A representa 50% a 60% de todos os casos de câncer de mama, e o luminal B, 15% a 20% dos casos (YERSAL et al., 2014).

A maioria dos carcinomas de mama começam como dependente de estrogênio e estima-se que 75% dos tumores sejam RE+ (LIM et al., 2012; YERSAL et al., 2014). De modo geral, os tumores RE+ se apresentam bem diferenciados e menos agressivos que tumores RE-, respondem melhor à terapia

endócrina devido à presença de receptores de estrogênio, e têm melhor prognóstico nos primeiros anos. Tumores RE+ tendem a ter maior intervalo sem metástase, são mais propensos a ser de baixo grau e têm uma tendência à metástase para o osso, o que por sua vez é associado à melhor sobrevida (KWAIST et al., 2014). Os pacientes com câncer de mama metastático de um tumor primário RE+ raramente são curados e muitas vezes vivem muitos anos com sua doença, e embora tenham melhor prognóstico nos primeiros anos após o diagnóstico, os tumores RE+ foram associados à resultados relativamente piores que os tumores RE- 5 a 10 anos após o diagnóstico (BLOWS et al., 2010).

A presença de receptor de estrogênio é reconhecida por guias internacionais como fator preditivo imprescindível para tomada de decisão sobre o esquema terapêutico a ser seguido (CARDOSO et al., 2019; NCCN, 2020; SENKUS et al., 2015). A escolha da melhor associação das terapias leva em consideração o estadiamento clínico anatômico e/ou patológico, o tipo histológico, a presença de receptores hormonais, a expressão de HER2 no tumor, o estado clínico da paciente e o risco de recorrência. De acordo com o *National Comprehensive Cancer Network*, no caso de câncer de mama invasivo, estágio 3, ou para câncer de mama metastático, o PET/CT é uma das opções diagnósticas para a detecção de metástases ósseas da mesma forma que a cintilografia óssea. Em particular, FDG-<sup>18</sup>F PET/CT seria útil no caso de resultados de imagem padrão ambíguos ou questionáveis (NCCN, 2020).

Para o câncer de mama primário, a terapia localizada visa a remoção do tumor e possíveis linfonodos afetados nas proximidades, de modo a prevenir a recorrência da doença. A remoção cirúrgica do tumor pode ser acompanhada de terapia sistêmica antes ou depois do procedimento (neoadjuvante e adjuvante, respectivamente), ou radiação pós-operatória. As opções de terapia sistêmica incluem quimioterapia, imunoterapia e terapia endócrina, sendo que estes tratamentos podem ser utilizados em combinação, a depender do subtipo molecular do paciente. Já para pacientes com câncer de mama metastático, a terapia tem como objetivo aumento da sobrevida do paciente ou fins paliativos. A cirurgia deixa de ser uma opção viável para estes pacientes, a radiação é usada apenas para palição, e as terapias sistêmicas são o tratamento de escolha (WAKS et al., 2019).

Diversos biomarcadores são validados e utilizados na tomada de decisão para o uso de terapias sistêmicas. Um exemplo é a indicação de terapia endócrina para todos os pacientes RE+ e/ou PR+, independentemente da situação do HER2, a fim de bloquear a atividade de RE, conseqüentemente culminando na neutralização do crescimento tumoral promovido pelo estrogênio.

Atualmente, três classes de terapias endócrinas estão disponíveis: moduladores seletivos, inibidores de aromatase e *down-regulators* (inibidores) de RE seletivos (inibidores). Moduladores seletivos (tamoxifeno) possuem propriedades agonistas e antagonistas, inibem competitivamente a ligação de estrogênios ao receptor e induzem mudanças conformacionais que alteram a atividade transcricional, além de serem efetivos em pacientes pré ou pós-menopausa. Os inibidores de aromatase (anastrozol, letrozol e exemestano) são mais efetivos em pacientes pós-menopausa. Eles inibem a conversão de androgênios em estrogênios, diminuindo os níveis de estrogênio circulante e exercendo então um efeito indireto nos RE. Por último, fulvestrant é um inibidor seletivo do RE, que, ao se ligar ao RE competitivamente, pode bloquear a atividade transcricional mediada pelo RE e induzir a degradação do receptor (VAN KRUCHTEN et al., 2013).

O advento de terapias direcionadas ao receptor de estrogênio foi um fator chave para a queda na mortalidade do câncer de mama, mas nem todos os pacientes respondem a este tipo de terapia e muitos desenvolvem resistência nos sítios metastáticos, apresentando um importante desafio no manejo desses pacientes. Embora suas causas não sejam completamente elucidadas, a heterogeneidade na expressão de RE pode estar relacionada à resistência adquirida à terapia endócrina. De fato, a heterogeneidade pode ocorrer entre pacientes diferentes com o mesmo subtipo tumoral (heterogeneidade intertumoral) ou até mesmo no mesmo paciente (heterogeneidade intratumoral), considerando sítio primário e também metástases. Assim, o prognóstico pode variar muito entre pacientes com o mesmo diagnóstico e que receberam a mesma linha de tratamento, por exemplo.

A heterogeneidade intratumoral pode ser resultado da mudança de expressão de RE ao longo do curso da doença por mecanismos genéticos ou epigenéticos, pressão seletiva causada pelo tratamento, ou pela influência de

outras vias de sinalização, como a do HER2 (KURLAND et al., 2011). A perda de expressão de RE é considerada mais comum que o ganho de expressão, sendo que é reportada heterogeneidade na expressão do receptor em sítios primários e metastáticos entre 14,5 e 40% dos pacientes (AURILIO et al., 2014; FOUKAKIS et al., 2012). Além disso, dificuldades inerentes à técnica amplamente utilizada para avaliação de expressão de RE, podem levar à falsa interpretação de discrepância entre as lesões.

Atualmente, a imunohistoquímica (IHC) é a técnica recomendada para avaliação de biomarcadores associados ao câncer de mama, dentre eles o RE. A IHC é realizada com amostra obtida por biópsia ou punção aspirativa por agulha fina e, segundo o guia atualizado da *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN, 2020), o teste para receptor hormonal (RE e PR) por IHC deve ser feito em tumores primários e tumores metastáticos recém diagnosticados, usando a metodologia empregada no guia da *American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists* (ASCO/CAP) (ALLISON et al., 2020).

De acordo com este guia, tumores com 1% a 100% de células positivas para expressão de ER são classificados como RE+, e estes pacientes são considerados elegíveis para terapia endócrina. Entretanto, para resultados entre 1% e 10% o tumor é classificado como RE-baixo-positivo, um grupo heterogêneo e que apresenta comportamento muitas vezes semelhante ao dos tumores RE negativos. Embora os dados na literatura sejam limitados para este grupo quanto ao uso de terapia endócrina, pacientes com tumores RE-baixo-positivo são considerados elegíveis para este tratamento uma vez que os dados disponíveis sugerem possíveis benefícios. Com isso, é possível compreender a importância de quantificar o grau de positividade de expressão de RE para o planejamento terapêutico de uma paciente, uma vez que pacientes com 1% e 90% de células RE+ não receberiam o mesmo tratamento, embora ambas sejam RE+ (YIP et al., 2014).

Embora tenha especificidade de aproximadamente 100%, a IHC apresenta desvantagens, considerando a heterogeneidade intratumoral, além de não ser prática a realização da biópsia de múltiplas lesões no caso de pacientes com câncer de mama metastático. Além disso, a presença de RE não prediz que o receptor está funcional. Logo, para estas pacientes, a biópsia de uma lesão pode

não representar fidedignamente a expressão de RE no restante das células malignas pelo organismo (VENEMA et al., 2016).

A coleta de uma amostra de biópsia de tecido metastático não é considerada obrigatória na prática atual, a não ser que exames radiológicos identifiquem apenas uma única lesão, ou que o paciente tenha histórico de mais de um diagnóstico de câncer (FOUKAKIS et al., 2012). Sendo que nos casos em que não é realizada biópsia, os médicos continuam tratando as pacientes de acordo com a situação do RE do câncer de mama primário, para pacientes com carcinoma de mama metastático há a necessidade de um método diagnóstico não invasivo capaz de analisar a expressão de RE no corpo inteiro, identificando pacientes que têm maior chance de se beneficiar da terapia endócrina.

Embora não haja consenso entre especialistas e sociedades internacionais, observa-se na prática clínica amplo uso da tomografia por emissão de pósitrons (PET) para visualização de sítio primário e metástases. Esta técnica de imagem molecular não invasiva, combinada a tomografia computadorizada (CT), fornece imagens de alta resolução, e a caracterização da lesão dependerá de sua avidéz pelo radiofármaco empregado.

Considerando que no PET/CT há possibilidade de emprego de marcadores com altíssima afinidade à alteração molecular que se quer analisar, o radiofármaco emissor de pósitrons  $16\alpha^{18}\text{F}$ -fluoro- $17\beta$ -estradiol (FES- $^{18}\text{F}$ ), composto por uma molécula derivada do estrogênio, se mostra promissor para a detecção de lesões RE. Estudos clínicos comprovam a aplicabilidade deste radiofármaco, já aprovado para uso nos Estados Unidos e na França, no diagnóstico de tumores de mama RE+.

### **5.3. ESTUDOS NÃO CLÍNICOS**

#### **5.3.1. ESTUDOS *IN VITRO***

Diferentes modelos de tumores RE+ foram avaliados para determinar qual seria mais adequado para acompanhar a resposta do tumor a diferentes protocolos de tratamento, usando FES- $^{18}\text{F}$  em estudos de pequenos animais com

PET (ALIAGA et al., 2004). Linhagens celulares de câncer de mama humano RE+, MCF-7 e T-47D e carcinomas mamários murinos MC4-L2, MC4-L3 e MC7-L1 foram comparados quanto à taxa de crescimento *in vivo* e retenção de situação RE+. O conteúdo de RE foi determinado a partir da captação de FES-<sup>18</sup>F, e a atividade metabólica foi estimada a partir da captação de FDG-<sup>18</sup>F. De acordo com o estudo, os tumores murinos MC7-L1 e MC4-L2 são modelos adequados para o monitoramento da terapia de câncer de mama RE+ usando FES-<sup>18</sup>F em estudos de pequenos animais com PET, pois cresceram bem em camundongos e mostraram boa absorção de FDG-<sup>18</sup>F e FES-<sup>18</sup>F. Já as linhagens de células humanas cresceram a uma taxa mais lenta em camundongos e não conseguiram acumular FES-<sup>18</sup>F.

Em estudo de SEIMBILLE et al. (2002), a afinidade de ligação ao RE foi avaliada por ligação competitiva com [<sup>3</sup>H]estradiol em células MCF-7. A afinidade de ligação do FES-<sup>18</sup>F foi de cerca de 57% do estradiol, e FES-<sup>18</sup>F mostrou pouca ligação à SHBG em comparação com o estradiol.

O estudo de TEWSON et al. (1999), realizado com amostras de sangue extraídas de pacientes com câncer de mama às quais foi administrado FES-<sup>18</sup>F, visou investigar o papel da SHBG no transporte de FES-<sup>18</sup>F, o que pode por sua vez afetar o nível de captação de FES-<sup>18</sup>F nas células tumorais que expressam RE. Para isso, determinaram a extensão da ligação de FES-<sup>18</sup>F à SHBG no plasma do paciente, a extensão em que a saturação da ligação é possível em condições normais e mediram a cinética de transferência de FES-<sup>18</sup>F entre a albumina e SHBG.

Foi observado que FES-<sup>18</sup>F é ligado no soro às proteínas SHBG (45%) e albumina (45%), sendo que a distribuição de FES-<sup>18</sup>F entre estas duas proteínas é dependente da concentração de SHBG no plasma. Inicialmente, a maior parte do FES-<sup>18</sup>F é ligado à albumina, mas a transferência à SHBG é completa em 20 segundos à 0 °C, resultando na distribuição aproximada de 1:1 do FES-<sup>18</sup>F entre SHBG e albumina. Desta forma, o equilíbrio é atingido logo após a injeção do radiofármaco. Estes resultados sugerem que a extensão de ligação de FES-<sup>18</sup>F às proteínas do plasma deve ser levada em consideração na interpretação quantitativa das imagens direcionadas ao RE, e em modelos de cinética de FES-<sup>18</sup>F.

Adicionalmente, os metabólitos de FES-<sup>18</sup>F observados no plasma foram os conjugados de sulfato e glicuronídeo, assim como demonstrado em MANKOFF et al. (1997), e estes não se ligaram especificamente à SHBG.

### 5.3.2. FARMACOCINÉTICA E METABOLISMO DO PRODUTO EM ANIMAIS

Foram encontrados estudos que descrevem a biodistribuição de FES-<sup>18</sup>F em ratos e camundongos, inoculados ou não com modelos de xenoenxerto de câncer de mama (Tabela 2). FES-<sup>18</sup>F apresentou alta captação em ovários, útero e fígado, em camundongos fêmeas (ALIAGA et al., 2004).

FES-<sup>18</sup>F é metabolizado em espécies polares, e após 60 minutos da injeção menos de 15% da radioatividade provém do FES-<sup>18</sup>F. A reinjeção de amostras de sangue de 2 horas pós-injeção de FES-<sup>18</sup>F, mostrou que não houve ligação específica do radiofármaco em tecidos ricos em ER, como útero, e no tumor (MATHIAS et al., 1987). Isso demonstra que FES-<sup>18</sup>F é metabolizado rapidamente e seus metabólitos são espécies que não se ligam ao ER.

**Tabela 2 - Estudos não-clínicos com FES-<sup>18</sup>F em modelos animais**

Autores	Objetivos do estudo	Modelo tumoral	Modelo animal	Conclusões
Aliaga et al. (2004)	Investigar diferentes xenoenxertos RE+ e linhagens de células tumorais como possíveis modelos de tumor de mama RE+. O conteúdo de RE no tumor foi determinado pela retenção de FES- <sup>18</sup> F	Linhagens celulares de câncer de mama humano RE+ MCF-7 e T-47D, e MDA-MB-231 como RE- Linhagens celulares de carcinoma ductal mamário murino RE+ MC4-L2, MC4-L3 e MC7-L1.	As células tumorais humanas MCF-7, T47D e MDA-MB-231 foram inoculadas em camundongos atímicos (nus) ooforectomizados. As células de tumor mamário murino MC4-L2, MC4-L3 e MC7-L1 foram inoculadas em camundongos Balb/c	Foi demonstrada captação específica murina de FES- <sup>18</sup> F. A maior captação não tumoral observada nos ovários, útero e fígado
Balieiro M, 2020 (Estudo com FES- <sup>18</sup> F produzido)	Estudo de biodistribuição de FES- <sup>18</sup> F em	Linhagem celular adenocarcinoma de mama humano	Os estudos em animais sadios foram realizados	FES- <sup>18</sup> F tem perfil de biodistribuição semelhante em

Autores	Objetivos do estudo	Modelo tumoral	Modelo animal	Conclusões
no IPEN)	animais sadios e em animais com modelo de adenocarcinoma de mama humano ER+ (células MCF-7)	RE+ (MCF-7)	em camundongos BALB-c. No grupo de desenvolvimento tumoral foram utilizados camundongos imunodeficientes (Scid) foram inoculados com MCF-7	animais sadios e com tumor de mama, e apresenta captação seletiva no tumor de mama humano
Downer et al. (2001)	Avaliar os efeitos da rota de administração de FES- <sup>18</sup> F na biodistribuição do radiofármaco, em camundongos com xenoenxerto de câncer de mama (linhagem MCF-7).	Linhagem celular adenocarcinoma de mama humano RE+ (MCF-7)	Camundongos Fox Chase ICR SCID fêmeas	A administração intravenosa de FES- <sup>18</sup> F resulta em maior captação do tumor em comparação com administração intraperitoneal no modelo estudado
He et al. (2016)	Investigar o uso de FES- <sup>18</sup> F, FDG- <sup>18</sup> F e FMISO- <sup>18</sup> F PET na predição precoce e monitoramento da resposta à terapia com fulvestranto em camundongos inoculados com linhagem câncer de mama humano RE+	Linhagem celular de câncer de mama RE+ humano ZR-75-1	Camundongos nus BALB/c fêmeas	A captação de FES- <sup>18</sup> F é correlacionada com a resposta do tumor ao tratamento com fulvestranto e com níveis de RE $\alpha$ medidos por meio de IHC.
Heidari et al. (2015)	Avaliar se a resposta a terapias direcionada ao RE, como o fulvestranto, pode ser medida por imagens precoces de FES- <sup>18</sup> F PET	Linhagem celular adenocarcinoma de mama humano RE+ (MCF-7). Linhagem celular de controle RE-, MDA-MB-231.	Camundongos nus atímicos fêmeas (6-8 semanas de idade)	A absorção de FES- <sup>18</sup> F espelhou alterações dependentes da dose de fulvestranto na expressão funcional do ER

Autores	Objetivos do estudo	Modelo tumoral	Modelo animal	Conclusões
Jonson et al. (1999)	Examinar a taxa de metabolismo de FES- <sup>18</sup> F e um de seus análogos, e o efeito da SHBG no metabolismo, em hepatócitos isolados de ratos, babuínos e humanos	Não aplicável	Ratos imaturos, babuínos maduros de idade desconhecida e hepatócitos humanos de uma criança de 6 anos do sexo feminino.	A ausência de SHBG em hepatócitos de ratos contribui para o aumento da taxa de metabolismo de FES- <sup>18</sup> F, e a ligação de FES- <sup>18</sup> F a SHBG resulta em maior estabilidade metabólica e absorção tumoral <i>in vivo</i>
Mathias et al. (1987)	Mensurar a distribuição tecidual de FES- <sup>18</sup> F e seus metabólitos em ratos portadores de tumor de mama, a fim de caracterizar a captação de FES- <sup>18</sup> F FES neste modelo	Tumor de mama induzido por DMBA (7,12-dimetilbenzotraceno)	Ratos Sprague Dawley fêmeas, adultas e imaturas	O FES- <sup>18</sup> F é metabolizado rapidamente em ratos, com apenas 25% intacto 15 minutos após a injeção, e a maior parte da atividade no pool sanguíneo e nos tecidos não-alvo é de metabólitos.
Paquette et al. (2012)	Desenvolver um modelo não invasivo em camundongos portadores de tumor de mama, para investigar o uso de FES- <sup>18</sup> F PET na avaliação de tumores com diferentes situações de RE $\alpha$	Linhagens celulares de adenocarcinoma mamário murino MC7-L1 e MC4-L2 (RE +), e seus respectivos <i>knockdown</i> para expressão de RE (MC7-L1 e MC4-L2 RE $\alpha$ - <i>knockdown</i> )	Camundongos Balb/c	Houve forte correlação entre captação de FES- <sup>18</sup> F PET e expressão de RE $\alpha$ , e dados quantitativos de FES- <sup>18</sup> F PET estiveram de acordo com estudos <i>in vitro</i> e de biodistribuição.
Sasaki et al. (2000)	Avaliar a biodistribuição e cinética de FES- <sup>18</sup> F, e sua captação em tumores de mama murino.	Tumor de mama induzido por DMBA (7,12-dimetilbenzotraceno)	Ratos fêmeas Sprague-Dawley imaturas	A captação de FES- <sup>18</sup> F nos tecidos ricos em RE é altamente seletiva, e níveis endógenos de estrógenos podem reduzir a

Autores	Objetivos do estudo	Modelo tumoral	Modelo animal	Conclusões
				captação de FES- <sup>18</sup> F em tecidos RE+.

O estudo de ALIAGA et al. (2004), avaliou a capacidade de diferentes modelos de tumor RE+ em acompanhar a resposta a diferentes protocolos de tratamento. Foram testadas linhagens de células de tumor de mama humano (MCF-7, T-47D e MDA-MB-231), bem como de tumor mamário murino (MC7-L1 e MC4-L2).

As linhagens foram comparadas quanto ao seu conteúdo de RE, taxa de crescimento *in vivo* e retenção da expressão de RE. Segundo o protocolo experimental, os animais foram tratados por 28 dias com diferentes regimes de terapia hormonal e de quimioterapia. Após o período de crescimento do tumor e de tratamento, a atividade metabólica do tumor foi estimada a partir da captação relativa de FDG-<sup>18</sup>F, enquanto o conteúdo de RE foi determinado a partir da retenção de FES-<sup>18</sup>F (ALIAGA et al., 2004).

Foi observada maior concentração de RE na linhagem celular murina MC4-L2, e as linhagens MC7-L1 e MC4-L2 inoculadas em camundongos *Balb/c* mostraram bom crescimento e boa captação de FES-<sup>18</sup>F e FDG-<sup>18</sup>F. Além disso, a quimioterapia e a terapia hormonal retardaram o crescimento dos tumores MC7-L1 e MC4-L2, confirmando sua adequação como um modelo RE+. Para todos os modelos estudados, a biodistribuição de FES-<sup>18</sup>F foi comparável aos resultados reportados na literatura, e houve alta captação hepática, refletindo o metabolismo ativo de FES-<sup>18</sup>F no fígado (ALIAGA et al., 2004).

O estudo de BALIEIRO, 2020, avaliou a biodistribuição de FES-<sup>18</sup>F em animais saudáveis, utilizando camundongos *Balb/c*, e em camundongos *Scid* fêmeas, inoculadas com células tumorais MCF-7. Em animais saudáveis, foi demonstrado que o radiofármaco é eliminado rapidamente no sangue, e após 30 minutos da injeção do radiofármaco foi observada maior captação no útero e ovários. O radiofármaco também apresentou captação significativa no fígado e nos intestinos, relacionada à excreção preferencial pela via intestinal, bem como captação renal, compatível com a eliminação do radiofármaco pelo trato urinário.

Os camundongos *Scid* com tumor mostraram perfil de biodistribuição semelhante ao observado nos animais saudáveis, mas maior tempo de clareamento sanguíneo e maior captação pelos órgãos excretores se comparado aos animais saudáveis. Adicionalmente, foi realizada imagem micro-PET/CT com um dos camundongos com tumor, e o padrão de captação observado teve boa correlação com a biodistribuição invasiva, o que afirma o potencial do FES-<sup>18</sup>F como radiofármaco para uso diagnóstico de tumores RE+ (BALIEIRO, 2020).

Neste estudo foi também incluído o grupo bloqueio, que recebeu hormônio injetável 24 horas antes da administração de FES-<sup>18</sup>F, antes do estudo de biodistribuição. No grupo bloqueio foi observada menor captação do radiofármaco no RE e menor razão de ligação do radiofármaco no tumor, uma evidência da especificidade da ligação do FES-<sup>18</sup>F a este receptor. Com isso, a partir deste ensaio de bloqueio, foi demonstrado que o FES-<sup>18</sup>F produzido pelo IPEN apresentou captação seletiva no tumor de mama (BALIEIRO, 2020)..

O estudo de DOWNER et al. (2001), investigou o efeito da rota de administração de FES-<sup>18</sup>F na captação do radiofármaco, em camundongos *Scid* inoculados com tumor de mama humano RE+ MCF-7. Foi observado que a injeção intraperitoneal do radiofármaco é uma rota eficiente para atingir captação seletiva em órgãos localizados no peritônio, como úteros e ovários. Já a administração intravenosa valorizou a captação de lesões subcutâneas, como o xenoinxerto tumoral utilizado no estudo.

O estudo de JONSON et al. (1999), investigou a taxa de metabolismo de FES-<sup>18</sup>F e  $\beta$ FMOX-<sup>18</sup>F, um análogo de FES-<sup>18</sup>F, em diferentes modelos de hepatócitos isolados (de ratos, babuínos e humanos). O estudo também examinou a influência que a SHBG, uma globulina produzida no fígado e que possui maior afinidade ao FES-<sup>18</sup>F, exerce no metabolismo destes radiofármacos.

Nos hepatócitos de ratos imaturos, os quais não expressam SHBG, foi observada maior taxa de metabolismo de FES-<sup>18</sup>F comparado ao  $\beta$ FMOX-<sup>18</sup>F. Em hepatócitos de babuínos e humanos, o FES-<sup>18</sup>F é altamente ligado às proteínas do plasma e, com isso, é protegido do metabolismo. Com isso, o estudo demonstrou que a albumina do plasma e SHBG aumentam a estabilidade metabólica, resultando em maior taxa de captação específica de FES-<sup>18</sup>F (JONSON et al., 1999).

O estudo de MATHIAS et al. (1987), analisou a distribuição e curso temporal do metabolismo de FES-<sup>18</sup>F, bem como a distribuição tecidual de seus metabólitos, em ratos com tumor de mama. O objetivo do estudo foi verificar se há correlação entre o conteúdo de RE no tumor e a captação tumoral de FES-<sup>18</sup>F, considerando também o fluxo e volume sanguíneo tumoral, e o metabolismo do radiofármaco.

Neste estudo, ratos Sprague Dawley tiveram tumor de mama induzido por DMBA (7,12-dimetilbenzantraceno), e então foi realizada administração de FES-<sup>18</sup>F. Em determinado período após a administração do radiofármaco, foram coletadas amostras de sangue arterial dos animais, em seguida os mesmos foram sacrificados e os tumores foram removidos (MATHIAS et al., 1987).

Foi verificado que FES-<sup>18</sup>F é metabolizado rapidamente em ratos, e dentro de 1 a 2 horas após sua injeção, a maior parte de atividade circulante provém dos metabólitos do FES-<sup>18</sup>F, mas nos tecidos alvo a atividade se dá pelo composto não metabolizado. Além disso, os metabólitos podem ser captados por tecidos não-alvo de forma não-específica, enquanto não são captados pelos tecidos alvo de forma seletiva. Foi observado também que a captação de FES-<sup>18</sup>F pelo útero e os tumores induzidos por DMBA atingiu um nível máximo até 1 hora após a injeção, e depois caiu lentamente. Neste estudo não foi verificada correlação entre a captação de FES-<sup>18</sup>F e os fatores estudados, como fluxo e volume sanguíneo em tumores e metabolismo do radiofármaco (MATHIAS et al., 1987).

O estudo de SASAKI et al. (2000), examinou a distribuição tecidual e cinética de FES-<sup>18</sup>F em ratos fêmeas Sprague-Dawley imaturas, e avaliou a captação do radiofármaco em tumor de mama murino induzido por DMBA (SASAKI et al., 2000).

Para os testes de biodistribuição, os animais foram sacrificados em diferentes tempos após a administração de FES-<sup>18</sup>F, as amostras de tecidos foram removidas e a atividade foi medida em um contador gama. A captação de FES-<sup>18</sup>F foi avaliada como porcentagem de dose injetada por gramas do animal. Nos ensaios de bloqueio foi também injetado estradiol não marcado simultaneamente à administração de FES-<sup>18</sup>F, a fim de analisar o bloqueio na captação de FES-<sup>18</sup>F por tecidos ricos em RE (SASAKI et al., 2000).

Para os testes de captação de FES-<sup>18</sup>F em animais com tumor induzido por DMBA, os animais desenvolveram diferentes tipos de tumor de mama, incluindo carcinomas, fibroadenomas e papilomas. Assim como no estudo de biodistribuição, a captação de FES-<sup>18</sup>F foi avaliada nos tecidos de interesse, e também foram feitos ensaios *in vitro* para análise quantitativa do conteúdo de RE nas amostras de tecidos (SASAKI et al., 2000).

Foi verificado que FES-<sup>18</sup>F exibe captação altamente seletiva pelo útero, um tecido rico em ER, sendo que a captação atingiu nível máximo 60 minutos após a injeção. Já a captação em tecidos RE- atingiu pico após 7 minutos. Fígado e rins, órgãos envolvidos no metabolismo e excreção de FES-<sup>18</sup>F, apresentam pico de captação logo após a injeção do radiofármaco, que diminui gradualmente e aumenta ligeiramente após 180 minutos (SASAKI et al., 2000).

A coadministração de estradiol não marcado resultou em uma notável diminuição na captação de FES-<sup>18</sup>F no útero. Nos animais com tumor de mama murino, a captação de FES-<sup>18</sup>F nos tumores foi maior que no músculo, mas menor que no útero. Além disso, a captação de FES-<sup>18</sup>F no tumor de mama murino mostrou correlação com a concentração de RE mensurada por ensaio de radioreceptor *in vitro* (SASAKI et al., 2000).

Segundo os autores, estes resultados sugerem que a captação de FES-<sup>18</sup>F pelo útero é mediada pelo RE, e a presença de estradiol pode afetar a captação em tecidos RE+. Ainda, a correlação fraca, porém significativa entre captação de FES-<sup>18</sup>F e concentração de RE indica que a captação em tumores de mama depende principalmente da concentração de RE no tumor (SASAKI et al., 2000).

Como está destacado na tabela 2, foram utilizados diferentes modelos tumorais e animais nos estudos pré-clínicos de desenvolvimento do FES-<sup>18</sup>F. A heterogeneidade dos estudos, protocolos experimentais e modelos animais e tumorais utilizados, dificultam, em parte, a comparação de resultados quantitativos entre os estudos, porém demonstram a complexidade da avaliação dos diferentes estudos que foram necessários ao longo do desenvolvimento do radiofármaco. Os estudos pré-clínicos foram importantes para demonstrar a correlação entre captação do radiofármaco e a expressão de receptores RE, avaliar a farmacocinética e metabolismo do radiofármaco e ainda avaliar a resposta a terapias específicas, corroborando a aplicação clínica do produto.

## **5.4. EFEITOS EM HUMANOS**

### **5.4.1. FARMACOCINÉTICA E METABOLISMO DO PRODUTO EM SERES HUMANOS**

Visto que FES-<sup>18</sup>F é um análogo fluorado do estradiol, sua farmacologia é semelhante ao de outros estrógenos. Apenas aproximadamente 1 a 3% do estradiol endógeno circula livremente pelo organismo, em sua forma ativa, e a maior parte circula ligada às proteínas do plasma, como albumina e globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG). Assim como o estradiol, FES-<sup>18</sup>F também apresenta afinidade à SHBG e à albumina e, em humanos, 95% é ligado a estas proteínas do plasma (TEWSON et al., 1999).

Para aprovação do medicamento nos Estados Unidos, o fabricante apresentou dados da literatura que caracterizam a captação, biodistribuição, metabolismo e eliminação de FES-<sup>18</sup>F em seres humanos (FDA, 2018b) (tabela 3).

Uma vez injetado, o FES-<sup>18</sup>F é rapidamente absorvido pelo fígado e metabolizado, sendo que os metabólitos mais presentes no sangue e urina são conjugados de sulfato e glicuronídeo (MANKOFF et al., 1997). Os metabólitos são excretados pelos ductos biliares e, por meio da circulação enterohepática, são reabsorvidos no intestino delgado. Desta forma, a principal via de eliminação de FES-<sup>18</sup>F é pela urina, e pouca captação é observada no intestino grosso (MANKOFF et al., 2001). Além do fígado, ducto biliar, trato intestinal e bexiga, também é observada captação fisiológica de FES-<sup>18</sup>F em menor nível em outros tecidos-alvo do estradiol, sendo eles útero, ovários e no tecido mamário de mulheres pré-menopausa.

**Tabela 3 - Estudos de biodistribuição, metabolismo e eliminação de FES-<sup>18</sup>F em seres humanos**

Autores	Objetivos do estudo	Conclusões
Linden et al., 2011	Avaliar a ocupação do RE usando FES- <sup>18</sup> F PET antes e durante o tratamento com diferentes terapias direcionadas ao RE, em pacientes com câncer de mama metastático	A captação de FES- <sup>18</sup> F diminuiu de forma mais significativa com o uso de moduladores e bloqueadores de RE, com isso, FES- <sup>18</sup> F PET é capaz de avaliar a farmacodinâmica destes agentes <i>in vivo</i> .
Mankoff et al., 2001	Apresentar estimativas da dose de radiação para vários órgãos e para todo o corpo em pacientes do sexo feminino que realizaram imagem FES- <sup>18</sup> F PET	As doses de radiação absorvidas em todo o corpo e órgãos específicos associadas ao FES- <sup>18</sup> F PET são comparáveis ou inferiores às doses associadas a outros radiofármacos utilizados na medicina nuclear clínica
McGuire et al., 1991	Avaliar o potencial do FES- <sup>18</sup> F para detecção de câncer de mama metastático, e descrever efeito da terapia com modulador de RE (tamoxifeno) na captação de FES- <sup>18</sup> F	FES- <sup>18</sup> F PET tem alta sensibilidade e especificidade para detectar carcinoma de mama metastático. Há redução significativa na captação de FES- <sup>18</sup> F após terapia.
Mintun et al. 1988	Avaliar a viabilidade de FES- <sup>18</sup> F PET para detectar lesões tumorais de mama primárias RE+ e a correlação com a situação de RE <i>in vitro</i>	Captação focal foi observada em todos os pacientes com FES- <sup>18</sup> F, e a captação teve boa correlação com ensaios <i>in vitro</i>
Peterson et al., 2011	Determinar fatores do paciente, da atividade administrada de FES- <sup>18</sup> F e de seu metabolismo que podem influenciar os níveis de captação quantitativa em pacientes com câncer de mama.	SHBG é inversamente relacionada à captação de FES- <sup>18</sup> F, e os níveis pré-menopausa de estradiol não parecem afetar a captação ou metabolismo de FES- <sup>18</sup> F.

A captação de FES-<sup>18</sup>F ocorre por meio do RE, e correlaciona-se com a expressão de RE mensurada *in vitro* (GEMIGNANI et al.; 2013; MINTUN et al., 1988; PETERSON et al., 2014; VENEMA et al., 2017), no entanto, outros fatores além dos níveis de expressão de RE podem influenciar a captação do radiofármaco. Dentre estes, temos, por exemplo: características do paciente (idade, sexo, status de menopausa, estágio da doença, índice de massa corporal), histórico de terapias (quimioterapia, radioterapia, terapia endócrina), espécies presentes no sangue (estradiol sérico, testosterona, albumina, SHBG

sérica, metabólitos de FES-<sup>18</sup>F), e características do radiofármaco (dose, atividade específica, fração de FES-<sup>18</sup>F ligado à SHBG).

Um estudo retrospectivo de PETERSON et al. (2011) avaliou o efeito de tais fatores na captação de FES-<sup>18</sup>F em pacientes com câncer de mama primário RE+, comparando a imagem FES-<sup>18</sup>F PET com dados clínicos e laboratoriais, histórico de tratamento, propriedades do FES-<sup>18</sup>F e seu metabolismo e transporte. De todos os fatores clínicos, físicos e químicos testados, foi observado que índice de massa corporal e SHBG tiveram associação significativa com a captação de FES-<sup>18</sup>F. Além disso, os níveis de estradiol pré-menopausa e a atividade específica de FES-<sup>18</sup>F não influenciaram a captação do radiofármaco.

A fração de FES-<sup>18</sup>F ligada à SHBG e os níveis plasmáticos de SHBG tiveram uma associação significativa com o SUV de FES-<sup>18</sup>F, e a associação com a captação de FES-<sup>18</sup>F foi inversa, sugerindo que níveis mais elevados de ligação de SHBG limitam a captação de FES-<sup>18</sup>F no local do tumor. Por outro lado, a captação tumoral de FES-<sup>18</sup>F foi maior para pacientes com índice de massa corporal mais alto, mas esse efeito não persistiu quando o SUV foi corrigido para massa corporal magra (PETERSON et al. 2011).

É comum que pacientes que se submetam ao exame de PET com FES-<sup>18</sup>F tenham antecedentes de terapias hormonais antiestrogênicas, como agentes bloqueadores de RE direcionados ao receptor e agentes depletors de estrogênio direcionados à produção do ligante, e estas podem ter interações relevantes com FES-<sup>18</sup>F.

O primeiro estudo descrevendo o efeito do tamoxifeno, um modulador seletivo que inibe competitivamente a ligação de estrogênios ao receptor, foi realizado por MCGUIRE et al. (1991). Neste, 10 pacientes com câncer de mama metastático ou recorrente, tratados com tamoxifeno e 1 com tomorifeno, realizaram imagem FES-<sup>18</sup>F PET antes e depois do início da terapia. Destes, apenas 7 pacientes apresentaram lesões possíveis de serem analisadas quantitativamente nas imagens pré-terapia, com um total de 34 lesões, e foi verificada uma diminuição de aproximadamente 64% na captação de FES-<sup>18</sup>F após a terapia antiestrogênica.

LINDEN et al. (2011) também avaliaram a ligação do FES-<sup>18</sup>F ao RE antes e durante diferentes tipos de terapia endócrina, em mulheres com câncer de

mama metastático fortemente pré-tratadas. A captação tumoral de FES-<sup>18</sup>F diminuiu mais acentuadamente com bloqueadores de RE (tamoxifeno e fulvestrant), em média 54% de declínio, em comparação com um declínio médio de 15% observado com inibidores de aromatase. Ainda, a taxa de bloqueio tumoral completo (FES-<sup>18</sup>F  $\leq$  SUV 1,5) após tamoxifeno (5/5 pacientes) foi maior do que a taxa de bloqueio após fulvestranto (4/11).

Levando em consideração a interação entre drogas como tamoxifeno e fulvestranto, que podem bloquear o RE por até 8 e 28 semanas, respectivamente, a bula do CERIANNA indica a administração do radiofármaco antes do início de terapias endócrinas sistêmicas que bloqueiam o RE.

#### **5.4.2. SEGURANÇA**

Para análise de segurança no processo de aprovação do radiofármaco CERIANNA, o fabricante apresentou dados da literatura, que incluíram também os dados dos estudos clínicos utilizados na análise de eficácia.

Segundo estudo de MANKOFF et al. (2001) as doses em órgãos são comparáveis àquelas associadas a outros testes de medicina nuclear comumente realizados, e os riscos potenciais de radiação associados à imagem PET/CT de FES-<sup>18</sup>F estão dentro dos limites aceitos, sendo que a dose efetiva equivalente calculada foi de 0,22 mSv/MBq. Neste estudo, na maior atividade recomendada de 222 MBq, foi observado que os órgãos que recebem a maior dose são o fígado (0,13 mGy/MBq), a vesícula biliar (0,10 mGy/MBq) e a bexiga urinária (0,05 mGy/MBq) (tabela 4).

**Tabela 4 - Dose de radiação absorvida pelos órgãos**

Órgão	Dose média absorvida por unidade de atividade administrada (mGy/MBq)
Adrenais	0,023
Baço	0,015
Bexiga urinária	0,05
Cérebro	0,01
Cristalino	0,0009
Estômago	0,014
Fígado	0,126
Intestino delgado	0,027
Intestino grosso inferior	0,012
Intestino grosso superior	0,03
Mamas	0,009
Medula óssea vermelha	0,013
Músculo	0,021
Vesícula biliar	0,102
Parede do coração	0,026
Rim	0,035
Pulmões	0,017
Ovários	0,018
Pâncreas	0,023
Pele	0,005
Superfície óssea	0,014
Testículo	0,012
Timo	0,014
Útero	0,039

Fonte: MANKOFF et al. (2001), adaptado

As bulas dos radiofármacos ESTROTEP e CERIANNA apresentam tabelas com os mesmos valores de dose média absorvida por cada órgão. A bula do ESTROTEP indica que os valores foram retirados de MANKOFF et al. (2001), e

que foram calculados conforme recomendação do comitê MIRD (*Medical Internal Radiation Dose*).

Para o ESTROTEP, a atividade máxima recomendada é de 280 MBq e em um indivíduo adulto de 70 kg, a dose equivalente resultante é de aproximadamente 6,4 mSv. Adicionalmente, com a administração da atividade máxima de 280 MBq (7,568 mCi), a dose absorvida pelos órgãos críticos (fígado e vesícula biliar), são de 35 e 29 mGy, respectivamente. Para o CERIANNA, a atividade máxima recomendada é de 222 MBq (6 mCi) e, em um indivíduo adulto de 70 kg, a dose efetiva resultante é de aproximadamente 4,9 mSv (CERIANNA, 2020; ESTROTEP, 2020).

Não foram localizados estudos cujo objetivo foi unicamente determinar a segurança do FES-<sup>18</sup>F, no entanto alguns estudos fornecem informações a respeito de eventos adversos associados à administração do radiofármaco (tabela 5). Não há documentação na literatura de relato de óbito ou de evento adverso sério em decorrência da administração de FES-<sup>18</sup>F.

**Tabela 5 - Estudos com informações de segurança do FES-<sup>18</sup>F**

Estudo	Número de pacientes	Atividade administrada	Resultado
Mankoff et al. (2001)	49	56 - 296 MBq (1,5 - 8,0 mCi), Média de 204 MBq (5,4 mCi)	“Nenhuma quimiotoxicidade do FES era esperada, nem foi observada em nossa experiência.”
Kumar et al. (2007)	20	300 – 400 MBq (8,1 - 10,8 mCi)	“Nenhuma reação adversa foi registrada para qualquer uma das injeções de FES.”
Peterson et al. (2014)	19	2,59 MBq/kg (0,07 mCi/kg), de modo a não exceder 222 MBq (6 mCi)	“Durante este estudo, não houve eventos adversos relacionados à administração de FES ou imagens de FES”.
Chae et al. (2019)	90	111–222 MBq (3 - 6 mCi)	“Nenhum evento adverso foi relacionado ao medicamento do estudo, exceto dor no local da injeção em um (1%) paciente.”

A bula do radiofármaco CERIANNA indica que a segurança do radiofármaco foi avaliada a partir de estudos clínicos com 1207 pacientes com câncer de mama, nos quais FES-<sup>18</sup>F foi administrado pelo menos uma vez. As

reações adversas disguesia (alteração da sensação de paladar) e dor no local da injeção ocorreram em uma taxa < 1% (CERIANNA, 2020).

A bula do ESTROTEP não faz menção à possíveis reações adversas, e indica apenas que a dose efetiva é de 6,4 mSv e que para uma atividade máxima recomendada de 280 MBq, a ocorrência de efeitos adversos relacionados à exposição à radiação (carcinogênese ou desenvolvimento de doenças hereditárias) é improvável (ESTROTEP, 2020).

### **5.4.3. EFICÁCIA**

Segundo o modelo de eficácia apresentado por Fryback e Thornbury (1991), no campo de diagnóstico por imagem, a eficácia pode ser caracterizada em 6 níveis hierárquicos, que compreendem aspectos técnicos, uso clínico prático, possíveis desfechos do paciente e questões sociais (tabela 6). Tal análise é relevante uma vez que o diagnóstico por imagem depende de um dispositivo para obter as imagens, um profissional que manuseia o dispositivo e/ou interpreta as imagens, e o médico que utiliza o resultado na tomada de decisão. Além disso, todo este processo está compreendido em um sistema de saúde que agrega a sociedade como um todo (FRYBACK e THORNBURY, 1991).

Contudo, a validação de modalidades de imagem molecular que utilizam um marcador que tem como alvo um receptor ou via de sinalização específicos, como o FES-<sup>18</sup>F PET, requer etapas adicionais que não foram descritas por Fryback e Thornbury. De acordo com a adaptação da hierarquia de eficácia, proposta por Graham e Weber (2016), os estudos de acurácia diagnóstica devem ter ênfase reduzida, pois a natureza quantitativa da imagem molecular vai além da classificação binária de presença ou ausência de doença, o que é fundamental para o conceito de acurácia diagnóstica. Ainda assim, o conhecimento da acurácia diagnóstica de uma modalidade de imagem é um pré-requisito para avaliar a eficácia do pensamento diagnóstico, eficácia terapêutica, desfecho do paciente e as questões sociais relacionadas (GRAHAM e WEBER, 2016).

**Tabela 6 - Hierarquia de eficácia diagnóstica**

<b>1</b>	Eficácia técnica	Qualidade técnica da imagem
<b>2</b>	Acurácia diagnóstica	Determinar a presença ou ausência de doença (sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo)
<b>3</b>	Pensamento diagnóstico	Examinar como um teste ajuda ou confirma o diagnóstico, e relatar a diferença nas probabilidades de diagnóstico antes e depois do teste
<b>4</b>	Eficácia terapêutica	Mudanças na tomada de decisão terapêutica (manejo do paciente)
<b>5</b>	Desfecho do paciente	Os riscos esperados são ponderados em relação aos benefícios esperados (redução da mortalidade e morbidade, melhor expectativa de vida e qualidade de vida).
<b>6</b>	Social	Análises de custo-benefício

Fonte: FRYBACK e THORNBURY (1991), adaptado

As informações de eficácia apresentadas neste trabalho incluíram não apenas estudos encontrados através da busca na literatura, mas também informações de bula do FES-<sup>18</sup>F aprovados em outros países, e estudos apresentados pelos fabricantes de tais produtos às respectivas agências sanitárias.

O radiofármaco FES-<sup>18</sup>F é atualmente aprovado para uso clínico na França e nos Estados Unidos, sob nome comercial de ESTROTEP e CERIANNA, respectivamente. Segundo a bula dos medicamentos, este é indicado para uso no exame PET, para detecção de lesões metastáticas que expressam RE, em pacientes com câncer de mama metastático ou recorrente. (ESTROTEP, 2020; CERIANNA, 2020)

A bula do medicamento CERIANNA indica que a biópsia do tecido deve ser feita para confirmar a recorrência da doença e verificar a situação do RE por patologia, e o medicamento não deve ser utilizado no lugar da biópsia em pacientes com câncer de mama metastático ou recorrente para os quais a biópsia é indicada (CERIANNA, 2020).

A bula do medicamento ESTROTEP não menciona a relação entre a utilização do radiofármaco e a biópsia, e aponta apenas que ele é indicado para a caracterização de lesões metastáticas conhecidas ou suspeitas de serem de expressão de receptor de estrogênio em câncer de mama adulto com expressão inicial de receptor de estrogênio (ESTROTEP, 2020).

Para aprovação do medicamento nos Estados Unidos, o fabricante do CERIANNNA apresentou dados de 3 estudos clínicos (CHAE et al., 2019; PETERSON et al., 2014 e VENEMA et al., 2017) para suportar o uso de FES-<sup>18</sup>F para diagnóstico de tumor de mama RE+ (FDA, 2018b).

Segundo avaliação de comissão especializada na França (FRANÇA, 2020), para que o radiofármaco ESTROTEP fosse incluído na lista de medicamentos patenteados passíveis de serem reembolsados, para a indicação do FES-<sup>18</sup>F, foi necessária a análise de estudos para comprovar o benefício clínico do radiofármaco. Para serem selecionados, os estudos provenientes da literatura tinham que ser prospectivos, incluir pelo menos 20 pacientes e ter um dos seguintes objetivos:

- 1) Caracterização da acurácia diagnóstica em comparação com um método de referência validado, como a IHC (sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo do método);
- 2) A predição da resposta à hormonioterapia;
- 3) Impacto bem definido no cuidado e na evolução do paciente.

Além disso, os cálculos de acurácia diagnóstica foram realizados conforme a tabela 7, considerando a IHC como técnica de referência para a avaliação de expressão de RE:

**Tabela 7 - Parâmetros para o cálculo de acurácia diagnóstica dos estudos clínicos avaliados no processo de avaliação do ESTROTEP, para inclusão na lista de medicamentos patenteados passíveis de serem reembolsados**

		Imunohistoquímica	
		Positivo	Negativo
<sup>18</sup> F-FES-PET	Positivo	VP (verdadeiro positivo)	FP (falso positivo)
	Negativo	VN (verdadeiro negativo)	FN (falso negativo)

Fonte: FRANÇA (2020), adaptado

Os estudos aceitos para a análise realizada pela comissão especializada na França estão indicados na tabela 8, e compreendem uma meta-análise com resultados publicados (EVANGELISTA et al., 2016), uma meta-análise sem resultados publicados, 7 ensaios clínicos abertos e um ensaio clínico de fase 2, multicêntrico e simples cego, sem resultados publicados (ESTROTEPREDIC, identificador ClinicalTrials.gov NCT01627704).

**Tabela 8 - Estudos avaliados para aprovação do radiofármaco ESTROTEP**

Autores	Objetivos do estudo	Medição do desfecho principal	Conclusões
Chae et al. (2019)	Mostrar a relação entre a interpretação qualitativa de FES- <sup>18</sup> F PET e IHC quanto à expressão de RE em pacientes com câncer de mama primário ou metastático	Concordância percentual positiva e negativa em nível de lesão entre a interpretação qualitativa de FES- <sup>18</sup> F PET-CT e o ensaio imunohistoquímico.	Houve alta porcentagem de concordância negativa entre FES- <sup>18</sup> F PET-CT e situação do RE medido por IHC
Dehdashti et al. (2009)	Investigar se FES- <sup>18</sup> F PET e FDG- <sup>18</sup> F PET em série (mais desafio com estradiol) predizem resposta à terapia endócrina em pacientes com câncer de mama metastático	Os SUVs absolutos de pré-tratamento para FES- <sup>18</sup> F PET e FDG- <sup>18</sup> F PET, e as alterações percentuais em SUVs para FDG- <sup>18</sup> F PET após o desafio com estradiol foram comparados em respondedores e não respondedores. A sobrevida global dos pacientes foram comparadas pelo	A captação de FES- <sup>18</sup> F do tumor basal e <i>flare</i> metabólico após desafio com estradiol são ambos preditivos de resposta ao tratamento

Autores	Objetivos do estudo	Medição do desfecho principal	Conclusões
		FES- <sup>18</sup> F PET basal, alteração percentual no FDG- <sup>18</sup> F PET ( <i>flare</i> metabólico) e resposta clínica	
Evangelista et al. (2016)	Meta-análise para determinar a correlação entre a captação de FES- <sup>18</sup> F e a expressão e funcionalidade do RE, e avaliar a capacidade do FES- <sup>18</sup> F PET em prever a resposta à terapia hormonal em pacientes com câncer de mama localmente avançado ou metastático.	Dados sobre a acurácia diagnóstica de FES- <sup>18</sup> F PET na avaliação da funcionalidade de ER e na previsão de resposta à terapia, como sensibilidade e especificidade agrupadas, razão de verossimilhança positiva e negativa, <i>odds-ratio</i> diagnóstico e intervalo de confiança de 95% (IC), foram avaliados qualitativamente. O valor preditivo positivo e negativo combinado também foi calculado	Foi observada boa correlação entre a captação de FES- <sup>18</sup> F e a expressão de RE por IHC, enquanto o papel do FES- <sup>18</sup> F em prever resposta à terapia endócrina no câncer de mama avançado permaneceu indeterminado
Linden et al. (2006)	Quantificar a captação de FES- <sup>18</sup> F do tumor como preditor de resposta à terapia endócrina em pacientes com câncer de mama metastático	A resposta foi determinada usando uma combinação de avaliação clínica e critérios RECIST modificados (Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos). A capacidade do FES- <sup>18</sup> F PET quantitativo (SUV e fluxo) para classificar a resposta foi analisada usando a curva característica de operação do receptor (ROC).	Ausência de captação prediz falha da terapia endócrina
Mortimer et al. (2001)	Avaliar se FES- <sup>18</sup> F PET e FDG- <sup>18</sup> F PET em série podem prever a resposta ao tamoxifeno em pacientes com câncer de mama localmente avançado ou metastático.	A resposta clínica foi definida por critérios padronizados no estudo, para determinar resposta completa ou parcial, e doença estável ou em progressão. Os SUVs absolutos de pré-tratamento para FES e as mudanças nos SUVs para FES e	Aumento na captação de FDG- <sup>18</sup> F e diminuição na captação de FES- <sup>18</sup> F após o início da terapia previu a resposta

Autores	Objetivos do estudo	Medição do desfecho principal	Conclusões
		FDG após o tratamento foram comparados em respondedores e não respondedores.	
Peterson et al. (2014)	O objetivo principal do estudo foi avaliar as medidas de captação de FES- <sup>18</sup> F no nível do paciente como preditores de resposta geral à terapia endócrina de primeira linhagem, em pacientes com câncer de mama metastático	A captação de FES- <sup>18</sup> F foi comparada ao benefício clínico (doença progressiva versus outros resultados em 6 meses). As associações entre os resumos de captação de FES no nível do paciente e o benefício clínico foram avaliadas	A captação baixa ou ausente de FES- <sup>18</sup> F correlaciona-se com a falta de expressão de RE. A captação baixa de FES- <sup>18</sup> F também prediz uma falta de resposta à terapia endócrina.
Sun et al. (2015)	Avaliar o valor clínico do FES- <sup>18</sup> F PET para auxiliar as decisões de tratamento individualizado de pacientes com câncer de mama.	Os resultados do PET/CT com 18F-FES dos pacientes foram entregues aos seus oncologistas clínicos, e as decisões de tratamento foram tomadas por uma equipe multidisciplinar. Os pacientes foram classificados em 3 subgrupos de acordo com sua finalidade de FES- <sup>18</sup> F PET. Todos os pacientes foram acompanhados por pelo menos 6 meses.	FES- <sup>18</sup> F PET foi capaz de avaliar a situação do RE no tumor, e pode ser usado para auxiliar as decisões de tratamento individualizado.
van Kruchten et al. (2015)	Avaliar FES- <sup>18</sup> F PET como marcador potencial para selecionar pacientes com câncer de mama metastático para terapia com estradiol	Para pacientes com doença mensurável, a resposta foi definida de acordo com os critérios RECIST. Pacientes com tempo para progressão $\geq 24$ semanas foram considerados como tendo obtido benefício clínico da terapia com estradiol. Os valores preditivos positivo e negativo foram calculados usando uma análise ROC.	FES- <sup>18</sup> F PET pode ajudar na identificação de pacientes com câncer de mama adquirido resistente a anti-hormônios que provavelmente não se beneficiarão da terapia com estradiol

O estudo de CHAE et al. (2019), foi um estudo clínico monocêntrico, prospectivo, fase 3 (NCT01986569) que avaliou a performance diagnóstica de

FES-<sup>18</sup>F, comparado à IHC como método de referência. O objetivo primário do estudo foi demonstrar o grau de concordância entre interpretação qualitativa do exame FES-<sup>18</sup>F PET/CT e a expressão de RE avaliada por IHC, em pacientes do sexo feminino e masculino, com câncer de mama em primeira recorrência ou metastático (CHAE et al., 2019).

No total, 93 pacientes foram recrutados e, destes, 85 foram incluídos na análise de eficácia diagnóstica (sensibilidade e especificidade) proposta como objetivo primário. Para serem incluídos nesta análise, os pacientes tinham que ter a confirmação histológica da situação de RE em pelo menos uma lesão e tinham que ter realizado FES-<sup>18</sup>F PET/CT (CHAE et al., 2019).

Do total de pacientes, 47 eram RE+ conforme IHC, e 36 destes tiveram resultado FES-<sup>18</sup>F positivo; 38 pacientes eram RE- conforme IHC, e todos tiveram resultado FES-<sup>18</sup>F negativo. Com isso, foi calculada sensibilidade de 76,6% ([IC 95% = 62,0; 87,7],  $p = 0,0018$ ) e especificidade de 100% ([IC 95% = 90,8; 100],  $p = 0,00053$ ). A partir destes valores, o VPP calculado foi de 95% (IC 95% = 90,3; 100), e o VPN de 77,6% (IC 95% = 63,4; 88,2). Os autores concluíram que, em decorrência da alta especificidade observada nesta coorte, a avaliação de lesões de câncer de mama recorrentes ou metastáticas RE+ por FES-<sup>18</sup>F PET/CT pode ser uma alternativa à realização de IHC, quando a biópsia não é possível (CHAE et al., 2019).

Além disso, um dos objetivos secundários do estudo incluiu avaliar a associação entre a captação semiquantitativa de FES-<sup>18</sup>F PET/CT na lesão tumoral (SUVmax) e medição imuno-histoquímica semiquantitativa (escore de Allred). Os valores médios de SUVmax foram 4,6 para pacientes com FES-<sup>18</sup>F positivo e 1,2 para pacientes com FES-<sup>18</sup>F negativo, e uma forte associação positiva foi encontrada entre o SUVmax de FES-<sup>18</sup>F e o escore de Allred para ensaio de RE por IHC ( $\rho=0,83$ ;  $p<0,0001$ ). Outro objetivo secundário foi avaliar a segurança de FES-<sup>18</sup>F PET/CT. Não foram observadas alterações clinicamente relevantes nos parâmetros de segurança, e o evento adverso mais comum foi a dor durante o procedimento em nove (10%) dos 90 pacientes injetados com FES-<sup>18</sup>F (CHAE et al., 2019).

O estudo de DEHDASHTI et al. (2009), avaliou se FDG-<sup>18</sup>F PET e FES-<sup>18</sup>F PET poderiam prever a resposta à terapia hormonal em pacientes

pós-menopausa com câncer de mama localmente avançado ou metastático RE+, após 6 meses de tratamento com um inibidor de aromatase ou fluvestrant (DEHDASHTI et al., 2009).

Ao todo, foram recrutadas 59 pacientes do sexo feminino, e destas, 51 foram incluídas no estudo. Foi possível confirmar histologicamente a situação RE+ de 18 destas pacientes (a partir de amostra de tumor primário localmente avançado ou de lesão recorrente ou metastática), e para as 33 pacientes restantes presumiu-se que a situação RE das metástases era igual ao do tumor primário. Todos os tumores avaliados no estudo eram RE+ (DEHDASHTI et al., 2009).

As pacientes realizaram FDG-<sup>18</sup>F PET e FES-<sup>18</sup>F PET antes do início do tratamento, e repetiram FDG-<sup>18</sup>F PET após protocolo de 30 mg de estradiol. Os resultados dos exames FDG-<sup>18</sup>F PET e FES-<sup>18</sup>F PET foram correlacionados com a resposta ao tratamento, e o valor de SUV  $\geq 2$  para captação de FES-<sup>18</sup>F foi considerado positivo para expressão de RE (DEHDASHTI et al., 2009).

Após avaliação semiquantitativa do FES-<sup>18</sup>F PET (SUV  $\geq 2$ ), o VPP foi de 50% (resposta ao tratamento em 12 dos 24 pacientes com FES-<sup>18</sup>F PET positivo) e o VPN de 81% (ausência de resposta em 5 dos 27 pacientes com PET-FES negativo). Adicionalmente, no FES-<sup>18</sup>F PET foi observado maior SUV tumoral em pacientes que responderam ao tratamento, comparado aos que não responderam, mas a captação de FES-<sup>18</sup>F pré-tratamento foi considerada um fraco fator preditor de resposta (DEHDASHTI et al., 2009).

O estudo de LINDEN et al. (2006), avaliou a capacidade do FES-<sup>18</sup>F PET em prever a resposta ao tratamento hormonal em pacientes com câncer de mama RE+ recorrente ou metastático, após 6 meses de terapia hormonal. Foram incluídos 47 pacientes, 3 do sexo masculino e 44 do sexo feminino, os quais foram submetidos a FDG-<sup>18</sup>F e FES-<sup>18</sup>F antes ou logo após o início da terapia endócrina (LINDEN et al., 2006).

A captação de FES-<sup>18</sup>F nos locais do tumor foi mensurada por meio do SUV e o fluxo de FES também foi calculado, o que leva em consideração a depuração sanguínea variável de FES. A resposta à terapia endócrina foi determinada usando uma combinação de avaliação clínica e modificações dos

critérios RECIST (Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos, do inglês *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*) (LINDEN et al., 2006).

Uma associação entre FES-<sup>18</sup>F PET e resposta ao tratamento foi observada após avaliação quantitativa (ausência de resposta nos 15 pacientes com FES-<sup>18</sup>F PET negativo (SUV<1,5) e resposta em 11 dos 32 pacientes com FES-<sup>18</sup>F PET positivo). Nenhum paciente com captação ausente de FES-<sup>18</sup>F apresentou resposta ao tratamento, no entanto, a associação entre os resultados qualitativos de FES-<sup>18</sup>F PET e a resposta à terapia não foi significativa. Segundo os autores, os resultados observados por meio da avaliação quantitativa sugerem a utilidade do FES-<sup>18</sup>F PET como uma ferramenta preditiva, para orientar a seleção de pacientes previamente tratados que poderiam se beneficiar com terapia endócrina (LINDEN et al., 2006).

O estudo de MORTIMER et al. (2001), avaliou se FES-<sup>18</sup>F PET poderia prever a resposta ao tratamento hormonal em pacientes com câncer de mama RE+ localmente avançado ou metastático, após 7 a 10 dias de tratamento com tamoxifeno. Ao total, foram incluídas 40 pacientes do sexo feminino, e nenhuma havia recebido terapia endócrina prévia. A situação do receptor foi determinada para o tumor primário original ou lesão recorrente ou metastática em 34 pacientes; nas seis pacientes restantes, a situação do receptor de lesões metastáticas ou recorrentes foi considerada a mesma do tumor primário original. Todas as pacientes avaliadas no estudo tinham tumor RE+ (MORTIMER et al., 2001).

Os SUVs iniciais absolutos, bem como as mudanças absolutas e percentuais nos SUVs, foram registrados para FDG-<sup>18</sup>F e FES-<sup>18</sup>F. Em pacientes com lesões múltiplas, foi calculada a média dos SUVs de todas as lesões observadas nas imagens PET, e esses valores médios gerais foram usados na comparação dos achados do PET com a resposta clínica. Os SUVs absolutos de pré-tratamento para FES-<sup>18</sup>F e as mudanças nos SUVs para FES-<sup>18</sup>F e FDG-<sup>18</sup>F após o tratamento foram comparados entre respondedores e não respondedores (MORTIMER et al., 2001).

Após avaliação quantitativa, utilizando como limiar para positividade de RE valores de SUV > 2, o VPP foi de 79% (resposta ao tratamento em 19 dos 24

pacientes com FES-<sup>18</sup>F PET positivo) e o VPN de 88% (ausência de resposta em 14 dos 16 pacientes com FES-<sup>18</sup>F PET negativo) (MORTIMER et al., 2001).

Foi observado maior SUV médio nas imagens FES-<sup>18</sup>F PET de pacientes que responderam ao tratamento ( $4,3 \pm 2,4$ ) que em pacientes que não responderam ( $1,8 \pm 1,4$ ,  $P = 0,0007$ ). Após 7 a 10 de tratamento houve diminuição na captação de FES-<sup>18</sup>F, conforme esperado, por conta da ligação de tamoxifeno e seus metabólitos aos REs, e esta diminuição percentual foi maior nos pacientes que responderam ao tamoxifeno (diminuição,  $54,8\% \pm 14,2\%$ ) do que naqueles que não responderam (diminuição,  $19,4\% \pm 17,3\%$ ;  $P = 0,0003$ ). Adicionalmente, a mudança média no SUV tumoral para FES foi mais acentuada nos respondedores (diminuição,  $2,5 \pm 1,8$  unidades SUV) do que nos não respondedores (diminuição,  $0,5 \pm 0,6$  unidades SUV;  $P = 0,0003$ ). Com isso, os autores concluíram que o preditor mais importante de resposta ao tamoxifeno foi a captação inicial de FES-<sup>18</sup>F (MORTIMER et al., 2001).

O estudo de PETERSON et al. (2014), foi um estudo clínico prospectivo, monocêntrico, fase 2 (NCT00602043) que avaliou a utilidade do FES-<sup>18</sup>F PET para prever a resposta ao tratamento hormonal de primeira linha em pacientes com câncer de mama metastático recém diagnosticado RE+, após 6 meses de tratamento. Os objetivos secundários incluíram a comparação entre a captação de FES-<sup>18</sup>F e IHC realizada com amostra obtida por biópsia, e a documentação da segurança do FES-<sup>18</sup>F (PETERSON et al., 2014).

Foram incluídas 19 pacientes do sexo feminino que deveriam iniciar a terapia endócrina dentro de 2 semanas do exame FES-<sup>18</sup>F, e a avaliação da resposta ao tratamento foi avaliada em 3 e 6 meses. Destas pacientes, 15 tinham biópsia de metástase e puderam ser avaliadas para resposta. Ao total, 13 pacientes tinham disponíveis resultados tanto do FES-<sup>18</sup>F PET quantitativo quanto da avaliação de biópsia da mesma lesão ou da lesão localizada regionalmente (PETERSON et al., 2014).

Utilizando SUV médio  $\geq 1,5$  e pontuação Allred  $\geq 2$  para definir pacientes FES-<sup>18</sup>F-positivos e RE+, respectivamente, todos os 11 pacientes RE+ eram FES-<sup>18</sup>F-positivos e ambos os pacientes RE-negativos eram FES-<sup>18</sup>F negativos. Adicionalmente, houve ausência de resposta ao tratamento em 5 dos 7 pacientes com FES-<sup>18</sup>F PET negativo. Os autores concluíram que a captação de FES-<sup>18</sup>F

baixa ou ausente se correlaciona com a falta de expressão de RE, e o FES-<sup>18</sup>F PET pode ajudar a identificar pacientes com câncer de mama metastático resistente à terapia endócrina, bem como avaliar com segurança a expressão de RE nestes pacientes (PETERSON et al., 2014).

O estudo de VAN KRUCHTEN et al. (2015), foi um estudo prospectivo (NCT01088477), cujo objetivo foi descrever os valores preditivos positivo e negativo (VPP e VPN) do FES-<sup>18</sup>F, na avaliação da resposta ao tratamento com estradiol em pacientes com câncer de mama metastático resistente a hormônios. Foram incluídos na análise 19 pacientes, sendo um deles do sexo masculino, com câncer de mama metastático e resistente a pelo menos duas linhas de tratamento por hormonioterapia. Os pacientes precisavam ter lesão anteriormente detectada como RE+ por meio de IHC, bem como foram requeridos a ter respondido a pelo menos uma linha anterior de terapia anti-hormônio (resposta objetiva ou doença estável  $\geq$  6 meses) (VAN KRUCHTEN et al., 2015).

A captação de FES-<sup>18</sup>F foi estabelecida para um máximo de 20 lesões por paciente e expressa por meio do SUV máximo, sendo que uma lesão com SUV  $>$  1,5 era considerada como RE+. A partir do quarto dia após realização do exame FES-<sup>18</sup>F PET/CT os pacientes receberam um total de 6 mg de estradiol, com 3 administrações diárias de 2 mg. A tomografia computadorizada foi repetida a cada 3 meses para avaliar a resposta ao tratamento, e benefício clínico foi definido como o tempo de progressão radiológica ou clínica  $\geq$  24 semanas (VAN KRUCHTEN et al., 2015).

Dos 19 pacientes avaliados, 12 (63%) tinham apenas lesões FES+, 6 (32%) tinham lesões FES- e FES+, e 1 apenas lesões FES-. 4 pacientes tiveram o tratamento com estradiol interrompido por apresentarem intolerância, e não foram portanto avaliados para resposta ao tratamento. O benefício clínico foi observado em 7 pacientes (37%), com doença estabilizada em 24 semanas, enquanto 8 pacientes apresentaram progressão da doença (5 confirmados por imagem e 3 confirmados por critérios clínicos) (VAN KRUCHTEN et al., 2015).

Utilizando a evolução clínica favorável ou desfavorável do paciente como método de referência, foram calculados VPP e VPN utilizando resultados dos 15 pacientes que completaram o tratamento com estradiol. O VPP foi de 60% (IC

95% = 31; 83) e o VPN foi de 80% (IC 95% = 38; 96). Os autores concluíram que FES-<sup>18</sup>F PET é especialmente útil na identificação de pacientes que são improváveis de se beneficiarem da terapia com estradiol, como resultado de captação de FES-<sup>18</sup>F baixa ou ausente nas metástases (VAN KRUCHTEN et al., 2015).

O estudo de SUN et al. (2015), foi um estudo monocêntrico e prospectivo que avaliou o valor clínico do exame FES-<sup>18</sup>F PET/CT na tomada de decisão terapêutica para pacientes com histórico de câncer de mama RE+. Foram incluídos 33 pacientes para os quais o FES-<sup>18</sup>F PET/CT foi solicitado para auxiliar na resolução de dilema clínico. Os participantes foram divididos em 3 subgrupos, de acordo com o motivo pelo qual o exame foi solicitado: avaliação de lesões equívocas observadas em exames de imagem convencionais (4/33), predição da origem de metástases (2/33), e avaliação da situação RE em metástases (27/33) (SUN et al., 2015).

Todos os pacientes realizaram ambos FES-<sup>18</sup>F e FDG-<sup>18</sup>F PET/CT, sendo que o segundo foi realizado 7 dias após o exame com FES-<sup>18</sup>F. Apenas lesões visíveis em FDG-<sup>18</sup>F PET/CT foram consideradas para esta análise, e o limiar máximo de SUV de 1,5 foi usado para determinar lesões RE+ no FES-<sup>18</sup>F PET/CT. No grupo no qual foi avaliada a situação RE em metástases, FES-<sup>18</sup>F PET/CT mostrou aumento da captação de FES-<sup>18</sup>F em todas as lesões metastáticas em 11 pacientes; ausente em todas as lesões em 13 pacientes; e os 3 pacientes restantes tinham lesões positivas e negativas para FES-<sup>18</sup>F (SUN et al., 2015).

Os 11 pacientes com captação significativa receberam tratamento hormonal, os 13 pacientes sem captação de FES-<sup>18</sup>F não receberam tratamento hormonal e para os 3 pacientes restantes com captação heterogênea, 2 receberam tratamento hormonal. Desta forma, no terceiro grupo o exame FES-<sup>18</sup>F PET/CT foi capaz de ajudar os médicos na decisão do tratamento, detectando a situação atual do RE. Ao todo, considerando os 3 grupos analisados, resultados de imagem com FES-<sup>18</sup>F PET/CT levaram a uma mudança no tratamento para 16 dos 33 pacientes (48,5%) (SUN et al., 2015).

Como é possível observar, os estudos de eficácia apresentados possuem diferenças significativas entre si. Utilizando o acrônimo PICO, uma estratégia

utilizada na construção de perguntas de pesquisa e de buscas bibliográficas, é possível aprofundar a análise de tais diferenças.

A estratégia PICO propõe que uma pergunta clínica deve ter quatro componentes essenciais: o paciente ou problema em questão; a intervenção, teste ou exposição de interesse; intervenções de controle ou comparação (se relevante); e o resultado, ou resultados, de interesse (SACKETT et al., 2000).

Nos estudos apresentados, todos os pacientes selecionados tinham câncer de mama, mas há uma variedade no estágio da doença no momento do estudo. Enquanto em alguns estudos foram selecionados pacientes com câncer de mama RE+ metastático ou localmente avançado (DEHDASHTI et al., 2006; LINDEN et al., 2006; PETERSON et al., 2014; VAN KRUCHTEN et al., 2015), em SUN et al. (2015) não é mencionada a apresentação da doença, apenas que os pacientes tinham histórico de câncer de mama RE+, e em CHAE et al. (2019) há inclusão de pacientes com câncer de mama primário e com câncer de mama metastático, sem menção da situação do receptor de estrogênio.

Outras diferenças entre os estudos apresentados, no que diz respeito aos pacientes, são históricos de terapias (terapias concomitantes ao exame e período sem terapias antes do exame), status de menopausa, idade e sexo, todos estes fatores que podem influenciar a captação de FES-<sup>18</sup>F.

Também há diferenças quanto à intervenção, pois embora todos os estudos tenham investigado o uso de FES-<sup>18</sup>F para imagem molecular, alguns estudos realizaram a técnica híbrida de PET/CT (CHAE et al., 2019; SUN et al., 2015; VAN KRUCHTEN et al., 2015), e outros utilizaram aparelhos que adquiriram apenas a imagem PET (DEHDASHTI et al., 2009; LINDEN et al., 2006; MORTIMER et al., 2001). Já em PETERSON et al. (2014), 15 pacientes realizaram exame em aparelho com aquisição apenas de imagem PET, e 5 pacientes em aparelho PET/CT. Além das diferenças entre aparelhos utilizados, também são observadas diferenças nas doses administradas e protocolos de aquisição de imagem entre os estudos.

Considerando o parâmetro de comparação, alguns estudos comparam diretamente o resultado do FES-<sup>18</sup>F PET com a imunohistoquímica (CHAE et al., 2019; PETERSON et al., 2014), enquanto alguns estudos não tiveram comparador, dentre eles DEHDASHTI et al. (2009), LINDEN et al. (2006) e VAN

KRUCHTEN et al. (2015). Já em MORTIMER et al. (2001) foi utilizado como comparador o FDG-<sup>18</sup>F PET. O estudo de SUN et al. (2015) foi mais diversificado nos comparadores, que foram diferentes a depender do propósito para realização do exame FES-<sup>18</sup>F PET.

Também houve diversidade entre os estudos quanto ao último item da estratégia PICO, relacionado ao desfecho (ou *outcome*, em inglês). CHAE et al. (2019) e PETERSON et al. (2014) apresentaram resultados de eficácia diagnóstica do FES-<sup>18</sup>F PET, usando a imunohistoquímica como referência. Já DEHDASHTI et al. (2009), LINDEN et al. (2006), PETERSON et al. (2014) e VAN KRUCHTEN et al. (2015) observaram a utilidade do FES-<sup>18</sup>F PET em prever a resposta à diferentes terapias, como tratamento com estradiol, inibidores de aromatase, moduladores e inibidores seletivos do RE. CHAE et al. (2019) e PETERSON et al. (2014) tiveram também como objetivos secundários a avaliação da segurança do FES-<sup>18</sup>F PET.

Adicionalmente, o limite (ou *cut-off*) do valor de SUV utilizado para determinar a positividade de uma lesão para o receptor de estrogênio também variou entre os estudos, o que pode afetar diretamente a mensuração do desfecho. DEHDASHTI et al. (2009) e MORTIMER et al. (2001) usaram limite de SUV<sub>max</sub> > 2. CHAE et al. (2019), LINDEN et al. (2006), PETERSON et al. (2014), VAN KRUCHTEN et al. (2015) e SUN et al. (2015) usaram SUV > 1,5 para definir uma lesão como RE+.

Com isso, considerando a finalidade diagnóstica para a qual o FES-<sup>18</sup>F foi aprovado na França e Estados Unidos, os estudos de CHAE et al. (2019), PETERSON et al. (2014) e VENEMA et al. (2017) são aqueles cujos delineamento experimental e desfechos melhor se alinham às indicações descritas em bula (tabela 9). Estes estudos utilizaram a IHC como referência para o cálculo de performance diagnóstica do PET com FES-<sup>18</sup>F, sendo que de fato a IHC é o método consagrado em guias internacionais para determinação da situação RE em lesões de tumor de mama (ALLISON et al., 2020). Adicionalmente, as meta-análises de EVANGELISTA et al. (2013) e KURLAND et al. (2020) indicam que PET com FES-<sup>18</sup>F apresenta alta especificidade e sensibilidade na detecção de lesões ER+.

**Tabela 9 - Estudos de eficácia de FES-<sup>18</sup>F com delineamento experimental e desfechos alinhados com indicação descrita nas bulas de ESTROTEP e CERIANNA**

Categoria	Estudo clínico		
	Chae et al. (2019)	Peterson et al. (2014)	Venema et al. (2017)
Fase	3	2	2
Delineamento	Prospectivo	Prospectivo	Prospectivo
População	Pacientes com câncer de mama metastático	Pacientes com câncer de mama metastático	Pacientes com câncer de mama metastático
Desfecho	Imagem PET/IHC	Imagem PET/IHC	Imagem PET/IHC
Padrão de referência	IHC	IHC	IHC
Dose (MBq)	204 (192 - 211)	2,6/kg, ≤ 222	200
Dose (mCi)	5,5 (5,2 - 5,7)	0,07/kg ≤ 6	5,4
Tempo para início da imagem PET após a administração de FES	80 minutos	Aprox. 60 minutos	60 minutos
Período sem terapia endócrina antes do FES PET	Pelo menos 60 dias	6 meses para terapia endócrina prévia e 6 a 8 semanas a mais para tamoxifeno	Não informado
Participantes que completaram o FES PET	90	19	21
Participantes no estudo de eficácia	85	15	13
Participantes com situação de RE conhecida para tumor de mama primário	51 (15 RE+, 36 RE-)	15 (todos RE+)	13 (todos RE+)
Sexo	Sexo feminino	Sexo feminino	11 mulheres, 2 homens
Idade	46 - 60 (média 55)	38 - 77 (média 64)	Média 64

Em CHAE et al. (2019), os autores concluem que a alta porcentagem de concordância negativa observada (VPN de 77,6%), entre PET/CT com FES-<sup>18</sup>F e a avaliação da expressão de RE por IHC, sugere que a captação positiva de FES-<sup>18</sup>F nas lesões recorrentes ou metastáticas seriam uma alternativa à realização de ensaios de IHC para este tipo de coorte. Embora os valores de VPP e VPN sejam diretamente ligados à prevalência da doença na população em

estudo e a interpretação do seu resultado deva levar em conta uma visão epidemiológica da patologia, um valor alto de VPN indica que para um resultado de exame negativo há grande chance de o paciente não possuir a doença (KAWAMURA, 2002).

Sendo que no reestadiamento de câncer de mama recorrente ou metastático ainda há necessidade de teste para outros marcadores, os autores indicam que a captação positiva de FES-<sup>18</sup>F não substituiria completamente a análise de amostra de biópsia de lesões. Esta sugestão está de acordo com a indicação prevista na bula do medicamento CERIANNA, a qual prevê que o medicamento não deve ser utilizado no lugar da biópsia em pacientes com câncer de mama metastático ou recorrente para os quais a biópsia é indicada. Adicionalmente, a bula deste medicamento prevê que “A patologia ou características clínicas que sugerem que um paciente pode se beneficiar da terapia hormonal sistêmica devem ter precedência sobre um exame CERIANNA negativo discordante” (CERIANNA, 2020)

Em PETERSON et al. (2014), todos os pacientes tinham histórico de lesão de mama primária RE+, conforme indicação presente na bula do radiofármaco ESTROTEP. Foi também realizado ensaio de IHC de lesões metastáticas para 15 dos 19 pacientes, sendo que 3 destes tiveram resultado negativo para presença de RE e todos os 3 pacientes apresentaram sítios FES-<sup>18</sup>F na análise qualitativa (PETERSON et al., 2014).

Embora a coorte neste estudo tenha sido pouco heterogênea clinicamente, por ter incluído apenas pacientes com câncer de mama recém diagnosticado como estágio IV, os autores concluíram que a captação de FES-<sup>18</sup>F baixa ou ausente se correlaciona com a falta de expressão de RE. Esta interpretação corrobora o uso de FES-<sup>18</sup>F PET para detecção da situação RE em lesões recorrentes ou metastáticas de câncer de mama (PETERSON et al., 2014).

Adicionalmente, o estudo de VENEMA et al. (2017), indicado pelo fabricante do CERIANNA como parte da literatura para avaliação de eficácia do FES-<sup>18</sup>F, também avaliou a concordância entre o exame PET com FES-<sup>18</sup>F e os resultados de biópsia. Neste estudo prospectivo, conduzido em dois centros (identificador ClinicalTrials.gov NCT01988324), foram incluídos pacientes do sexo masculino (2/13) e feminino na pós-menopausa (11/13) com câncer de mama

metastático e tumor primário ER+ anterior, com metástase não-hepática segura para biópsia. Enquanto todos os pacientes avaliáveis tinham um tumor primário RE+, dois pacientes tinham lesões metastáticas RE- (VENEMA et al., 2017).

Foi realizada biópsia de metástase detectável por imagem convencional e correspondente na imagem FES-<sup>18</sup>F PET, após 8 semanas do PET. A expressão de RE nas amostras foi analisada por IHC, e a presença de mais de 1% de células coradas caracterizou a amostra como RE+. Usando SUVmax > 1,5 para definir pacientes FES-<sup>18</sup>F-positivos, todos os 11 pacientes RE+ eram FES-<sup>18</sup>F-positivos e ambos os pacientes RE- eram FES-<sup>18</sup>F-negativos (VENEMA et al., 2017).

Assim, os autores concluíram que a captação de FES-<sup>18</sup>F se correlaciona bem com a expressão de RE observada nas biópsias, mostrando o potencial de imagens não-invasivas de corpo inteiro para avaliação da situação do receptor. Mas a recomendação dos autores vai além daquilo que é indicado na bula do CERIANNA, pois diz que FES-<sup>18</sup>F PET têm o potencial de servir como substituto para biópsia de metástase, especialmente quando as lesões são de difícil acesso ou erros de amostragem são propensos a ocorrer, e a bula indica que PET deve ser usado como adjuvante da biópsia (CERIANNA, 2020; VENEMA et al., 2017).

O estudo de EVANGELISTA et al. (2013) apresentou os resultados de duas análises agrupadas sobre a performance diagnóstica do FES-<sup>18</sup>F PET em pacientes com câncer de mama avançado ou metastático. A primeira análise se concentrou na correlação entre captação de FES-<sup>18</sup>F e a expressão e funcionalidade de REs, enquanto a segunda teve como objetivo avaliar a capacidade de FES-<sup>18</sup>F PET para prever a resposta à terapia hormonal.

A revisão sistemática dos dados foi realizada seguindo as recomendações PRISMA e QUADAS-2, com dois revisores estimando a relevância da metodologia diagnóstica em cada um dos estudos. Os estudos deveriam ser escritos em inglês, ter mais de 10 pacientes (homens ou mulheres), ter um padrão de referência tanto para a identificação de receptores de estrogênio ou para definir a resposta ao tratamento hormonal e ter parâmetros diagnósticos para calcular a sensibilidade e especificidade de PET com FES-<sup>18</sup>F.

Dentre os estudos, 23 foram selecionados para análise. Para a primeira análise agrupada, foram identificados 9 estudos, incluindo 238 pacientes (de 11 a

48 pacientes dependendo do estudo). Para a segunda análise agrupada, foram identificados 7 estudos, incluindo 226 pacientes (de 11 a 51 pacientes dependendo do estudo). Para esta segunda análise, a interpretação dos resultados não foi possível devido ao pequeno número de estudos e à alta heterogeneidade dos resultados.

Para a primeira análise, dos 9 estudos identificados, 6 estudos apresentaram todos os parâmetros de acurácia diagnóstica (tabela 10). A sensibilidade agrupada foi de 82% (IC 95% = 74; 88), e a especificidade agrupada foi de 95% (IC 95% = 86; 99).

**Tabela 10 - Acurácia diagnóstica nos 6 estudos selecionados para análise agrupada 1 de EVANGELISTA et al. (2013)**

Estudo	Nº pacientes	VP	FP	VN	FN	Sensibilida- de (IC 95%)	Especifici- dade (IC 95%)	VPP	VPN
Dehdashti et al. (1995)	40	15	0	5	20	75% (62-98%)	1	1	80% (62-98%)
Gemignani et al. (2013)	48	24	2	6	6	85% (74-96%)	75% (45-100%)	94% (87-100%)	50% (15-85%)
Mortimer et al. (1996)	41	16	0	5	20	76% (58-94%)	1	1	80% (62-98%)
Peterson et al. (2014)	18	12	0	3	3	80% (60-100%)	1	1	50% (0-100%)
van Kruchten et al. (2012)	33	22	0	3	8	88% (75-100%)	1	1	73% (43-100%)
Yang et al. (2014)	18	10	1	1	6	91% (74-100%)	86% (60-100%)	91% (74-100%)	86% (60-100%)

Fonte: EVANGELISTA et al. (2013), adaptado

O estudo de KURLAND et al. (2020) analisou estudos em que FES-<sup>18</sup>F PET foi usado para caracterizar a situação RE de pacientes com câncer de mama metastático. Os estudos deveriam ser escritos em inglês, ter incluído mais de 10 pacientes (homens ou mulheres), ter dados diagnósticos diretos sobre a sensibilidade e/ou especificidade do FES-<sup>18</sup>F PET e identificar os padrões de referência pelos quais a sensibilidade e a especificidade foram julgadas. A revisão sistemática dos dados foi realizada seguindo as recomendações PRISMA e

QUADAS-2, com dois revisores estimando a relevância da metodologia diagnóstica em cada um dos estudos (KURLAND et al., 2020).

Doze estudos foram selecionados para a meta-análise (tabela 11), mas, como as definições de positividade do RE por IHC (o padrão de referência) e de FES-<sup>18</sup>F-positivo (o resultado do teste) diferiram ligeiramente entre os estudos, essas classificações específicas foram preservadas. Assim, foram realizadas 4 análises separadas, para testar a acurácia do FES-<sup>18</sup>F PET (KURLAND et al., 2020).

Para a análise primária de lesões não mamárias, a sensibilidade geral estimada foi de 0,78 (IC 95% = 0,65–0,88), e especificidade geral foi de 0,98 (0,65–1,00). A análise secundária 1 analisou lesões mamárias em três estudos, em pacientes com câncer de mama em qualquer estágio. A sensibilidade geral estimada foi de 0,86 (0,73–0,94) e a especificidade foi de 0,76 (0,52–0,90). Na análise secundária 2, que combinou todas as lesões com status RE pareado por IHC, foi observada uma sensibilidade geral de 0,83 (0,72–0,90) e especificidade geral de 0,83 (0,64–0,93). Por fim, a análise secundária 3 expandiu a análise combinada da acurácia do PET com FES-<sup>18</sup>F para incluir testes de expressão de RE diferentes do IHC. A sensibilidade geral foi de 0,81 (0,73–0,87) e a especificidade geral foi de 0,86 (0,66–0,94) (KURLAND et al., 2020).

A concordância observada entre a situação RE determinada por IHC a partir de amostra de uma única lesão e os resultados verificados no PET com FES-<sup>18</sup>F atestam a validade do PET com FES-<sup>18</sup>F para avaliação da expressão de RE em pacientes com câncer de mama metastático. Nesta meta-análise, os tamanhos das amostras dos estudos foram reduzidos, o relato de critérios de inclusão/exclusão para pacientes e lesões nem sempre foi claro, e os limites qualitativos e quantitativos para positividade de FES-<sup>18</sup>F e situação de RE não foram uniformes entre os estudos. Ainda assim, a alta especificidade em lesões metastáticas suporta a capacidade de PET com FES-<sup>18</sup>F para detectar perda de expressão de RE nessas lesões (KURLAND et al., 2020).

No restante dos estudos citados neste tópico foi avaliada a capacidade do PET com FES-<sup>18</sup>F em predizer a resposta à terapia em pacientes com câncer de mama, ou para avaliar o valor clínico de PET com FES-<sup>18</sup>F no manejo destes pacientes. Embora os resultados apresentados sejam promissores, não é possível

correlacioná-los com a indicação prevista nas bulas do ESTROTEP e CERIANNA (KURLAND et al., 2020).

**Tabela 11 - Acurácia diagnóstica nos doze estudos selecionados para a meta-análise de KURLAND et al. (2020)**

Estudo	Nº pacientes	VP	FP	VN	FN	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)
Chae et al. (2017)	26	24	0	2	0	92% (75-98%)	Indeterminado
Chae et al. (2019)	85	36	0	38	11	77% (63-86%)	100% (90-100%)
Dehdashti et al. (1995)	40	15	0	5	20	75% (62-98%)	1
Gemignani et al. (2013)	48	24	2	6	6	85% (74-96%)	75% (45-100%)
Gupta et al. (2017)	12	10	0	2	0	Indeterminado	Indeterminado
Mintun et al. (1988)	10	8	0	2	0	99% (67-100%)	5% (0-67%)
Mortimer et al. (1996)	41	16	0	5	20	76% (58-94%)	1
Peterson et al. (2008)	17	12	1	4	0	100% (73-100%)	80% (28-99%)
Peterson et al. (2014)	18	12	0	3	3	80% (60-100%)	1
van Kruchten et al. (2012)	33	22	0	3	8	88% (75-100%)	1
Venema et al. (2007)	13	11	0	2	0	99% (73-100%)	96% (33-100%)
Yang et al. (2014)	18	10	1	1	6	91% (74-100%)	86% (60-100%)

Fonte: KURLAND et al. (2020), adaptado

Os estudos apresentados, em especial de CHAE et al. (2019), PETERSON et al. (2014) e VENEMA et al. (2017), sugerem uma sensibilidade e especificidade significativas do FES-<sup>18</sup>F PET, apesar da falta de robustez dos estudos. No entanto, os estudos em humanos com FES-<sup>18</sup>F apresentam variação considerável entre os protocolos, indicações e delineamento experimental, o que dificulta a comparação direta entre eles para que se chegue à uma conclusão a respeito do benefício da técnica.

Outra dificuldade, no que diz respeito ao cálculo da acurácia diagnóstica do FES-<sup>18</sup>F PET para avaliação do RE, é a necessidade da caracterização da natureza histológica das metástases. O ideal seria a realização da comparação direta de cada lesão detectável com a técnica de referência, a imunohistoquímica. Entretanto, como há impossibilidade de fazê-lo em situações em que a biópsia não pode ser realizada, os cálculos de acurácia são feitos a partir do resultado histológico de algumas lesões metastáticas, que podem não ser o representativo de todas as lesões do paciente, considerando a natureza heterogênea intrínseca ao câncer de mama.

Vale ressaltar que qualquer técnica de diagnóstico por imagem não-invasiva pode ter impacto na morbidade e mortalidade de uma doença, em decorrência das mudanças que estas podem causar no manejo dos pacientes. Desta forma, estudos com maior seguimento são necessários para avaliar o impacto que a alteração de conduta causada pelo uso da técnica tem na sobrevida dos pacientes com câncer de mama metastático ou recorrente.

## **5.5. PRODUÇÃO DE FLUORESTRADIOL-<sup>18</sup>F (FES-<sup>18</sup>F)**

O primeiro método de síntese de FES-<sup>18</sup>F foi reportado por Kiesewetter e colegas (KIESEWETTER et al., 1984), por meio de dois passos, incluindo a substituição nucleofílica por <sup>18</sup>F de um precursor triflato, seguida por uma etapa de redução e hidrólise com hidreto de alumínio e lítio. Por meio deste método foi possível alcançar rendimentos de aproximadamente 43% após purificação, no entanto, na etapa de redução, o álcool 17 $\alpha$ -epimérico é produzido como subproduto e deve ser separado.

Atualmente, o precursor mais utilizado é o 3-metoximetil-16 $\beta$ , 17 $\beta$ -epiestriol-O-cíclico sulfona (MMSE), descrito por LIM et al. (1996). Este precursor é comercialmente disponível e não leva à epimerização nas condições de radiomarcagem. Segundo este método, a substituição nucleofílica por [<sup>18</sup>F]fluoreto ocorre rapidamente com bom rendimento, e pouco subproduto é gerado, no entanto a produção manual e longo tempo de síntese (>60 min) ainda representavam um desafio para a produção de rotina de FES-<sup>18</sup>F.

A primeira síntese automatizada de FES-<sup>18</sup>F foi descrita por RÖMER et al. (1999), utilizando um módulo convencional para síntese de FDG-<sup>18</sup>F, com modificações no programa e no hardware. O uso de procedimentos automatizados para produção de radiofármacos representa um avanço pois é possível minimizar a exposição à radiação dos funcionários do laboratório, como também aumentar a eficiência e a qualidade das reações, reduzindo o tempo de produção. No entanto, o método descrito por RÖMER et al. (1999) contém condições de reação complexas e processos de purificação que fazem com que os rendimentos de produção de FES-<sup>18</sup>F não sejam reprodutíveis.

Utilizando uma versão modificada da síntese de FES-<sup>18</sup>F reportada por RÖMER et al. (1996), MORI et al. (2006) publicou a primeira síntese automatizada utilizando o módulo GE TRACERlab™ MXFDG. Segundo os autores, este módulo foi escolhido para a síntese automatizada de FES-<sup>18</sup>F pois é amplamente usado para produção de FDG-<sup>18</sup>F, aceita modificações no cassete e tem flexibilidade em sua programação. A vantagem deste método é que, para uma instalação que já produz FDG-<sup>18</sup>F com o módulo GE TRACERlab™ MXFDG, a síntese de FES-<sup>18</sup>F pode ocorrer no mesmo módulo sem mudanças no hardware, e os principais pontos diferentes entre a produção destes radiofármacos são o programa de síntese, os reagentes e o layout do cassete. OH et al. (2007) também reportou a síntese de FES-<sup>18</sup>F no GE TRACERlab™ MXFDG, com o rendimento radioquímico corrigido pelo decaimento após a purificação de  $45,3 \pm 2,8\%$ , enquanto o de MORI et al. (2006) foi de  $42,4 \pm 3,2\%$ .

Resumidamente, a síntese do radiofármaco FES-<sup>18</sup>F envolve a obtenção do radionuclídeo flúor-18, em acelerador ciclotron, fluoração do precursor, hidrólise dos grupos de proteção e purificação do produto em cartuchos. Na reação de fluoração, o íon <sup>18</sup>F<sup>-</sup> é incorporado ao precursor por meio de substituição nucleofílica, produzindo um intermediário fluorinado. Em seguida, é realizada hidrólise ácida do intermediário para remoção dos grupos metoximetil e sulfúril, por fim, o produto final é purificado (SHI et al., 2014).

### 5.5.1. OBTENÇÃO DE FLÚOR-18 E MARCAÇÃO DO FES-<sup>18</sup>F

O flúor-18 (<sup>18</sup>F) é o radioisótopo mais usado em radiofármacos para imagens PET, por conta de suas características físicas e nucleares (decaimento β<sup>+</sup> de 97%, meia-vida de 109,7 min, energia máxima de pósitrons de 635 keV), sua alta atividade específica e facilidade de produção em larga escala (BASU et al., 2011).

É obtido na forma ionizada (<sup>18</sup>F<sup>-</sup>) por meio do bombardeio de H<sub>2</sub><sup>18</sup>O (água enriquecida) por prótons acelerados, através da reação nuclear <sup>18</sup>O (p, n) <sup>18</sup>F em aceleradores de partículas (ciclotron). Para radiomarcagem, o <sup>18</sup>F pode ser incorporado à molécula de interesse por meio de substituição eletrofílica ou nucleofílica, sendo a última a reação preferida para produção de radiofármacos pois o <sup>18</sup>F<sup>-</sup> produzido no ciclotron possui uma elevada atividade específica (JACOBSON et al., 2015).

Em solução aquosa, o íon <sup>18</sup>F<sup>-</sup> forma ligações de hidrogênio com as moléculas de água, sendo assim necessário desidratá-lo para que a reação de substituição nucleofílica ocorra. Além da evaporação da água, sua remoção também é facilitada pela destilação azeotrópica usando CH<sub>3</sub>CN. Adicionalmente, a solubilidade e nucleofilicidade do íon fluoreto em solventes orgânicos é aumentada pela adição de um catalisador de transferência de fase, como Kryptofix 2.2.2 (K<sub>222</sub>) ou pela adição de bicarbonato de tetrabutilamônio (TBA-HCO<sub>3</sub>). Após o processo de remoção da água, para marcação do precursor, o <sup>18</sup>F<sup>-</sup> atua como doador de elétrons à molécula precursora, que possui um grupo abandonador (JACOBSON et al., 2015).

### 5.5.2. SÍNTESE DE FES-<sup>18</sup>F

Nos estudos relevantes para aprovação do radiofármaco nos Estados Unidos (CHAE et al., 2019; PETERSON et al., 2014; VENEMA et al., 2017) foi reportado o uso de métodos de produção de FES-<sup>18</sup>F conforme descrito em LIM et al. (1996), OH et al. (2007) e RÖMER et al. (1996, 1999).

Em LIM et al. (1996) foi utilizado o precursor 3-metoximetil-16β, 17β-epiestriol-O-cíclico sulfona (MMSE) para obtenção de FES-<sup>18</sup>F através da

fluoração com íon  $^{18}\text{F}^-$ . Atualmente, este precursor é amplamente utilizado na produção de FES- $^{18}\text{F}$ , e é um composto estável e de produção simples, a partir de materiais comercialmente disponíveis. Segundo o método descrito neste estudo, esta reação resulta em alto rendimento radioquímico e baixa produção de subproduto. Há formação de sal de sulfato, no entanto, este sal pode ser separado por métodos de purificação, como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cartucho de sílica. Em seguida, ocorrem reações de hidrólise e purificação, e ao final da síntese FES- $^{18}\text{F}$  pode ser isolado com atividade específica de menos de 1 Ci/ $\mu\text{mol}$ .

A síntese manual de FES- $^{18}\text{F}$  a partir deste mesmo precursor também foi descrita por RÖMER et al. (1996), bem como a síntese automatizada com módulo convencional de síntese de FDG- $^{18}\text{F}$  (RÖMER et al., 1999). No entanto, o uso de um módulo de síntese automatizado com cassete poderia fornecer rendimentos radioquímicos estáveis, com condições de reação e processos de purificação menos complexos, e sem a necessidade de procedimentos de limpeza manuais.

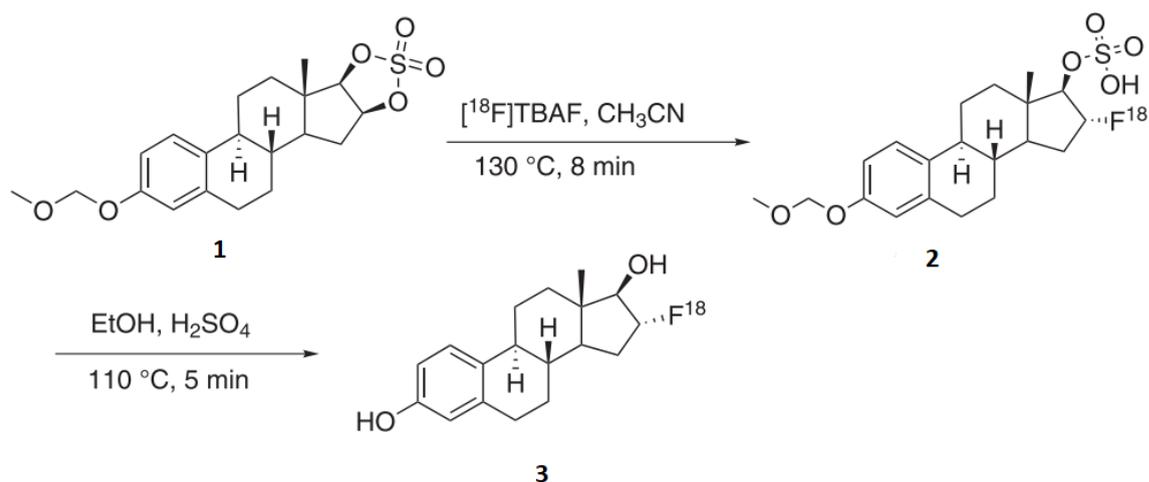
Assim, começou a ser explorado o uso de módulos de síntese automatizada com cassete, e MORI et al. (2006) descreveu pela primeira vez a produção de FES- $^{18}\text{F}$  com o módulo GE TRACERlab™ MXFDG, um módulo amplamente utilizado na produção de FDG- $^{18}\text{F}$ , este que é o radiofármaco mais utilizado nos exames PET. Os estudos de OH et al. (2007) e KNOTT et al. (2011) também descrevem a produção do radiofármaco utilizando este módulo de síntese.

A síntese de FES- $^{18}\text{F}$  ocorre em uma reação de 3 passos: fluoração do precursor por meio de substituição nucleofílica e duas reações de hidrólise (figura 2). De forma resumida, para a produção de FES- $^{18}\text{F}$  no módulo GE TRACERlab™ MXFDG, primeiramente o [ $^{18}\text{F}$ ]fluoreto produzido no ciclotron é transferido para o módulo de síntese e é retido em um cartucho. Então, o [ $^{18}\text{F}$ ]fluoreto é eluído para o frasco do reator utilizando-se um catalisador de fase, mais comumente Kryptofix® 2.2.2 ou bicarbonato de tetrabutilamônio (TBA- $\text{HCO}_3$ ), cuja finalidade é facilitar a reação de substituição nucleofílica (KNOTT et al., 2011)

No reator, a água é removida por secagem azeotrópica e o precursor MMSE diluído em acetonitrila é adicionado ao complexo [ $^{18}\text{F}$ ]fluoreto + catalisador de fase. A temperatura no reator é controlada para que ocorram as reações de

marcação e hidrólise e em seguida o produto da reação é diluído, com água ou solução etanólica, e purificado. Por último, a concentração de etanol é ajustada no produto final.

**Figura 2. Esquema químico geral para a produção de FES-<sup>18</sup>F.** Legenda: (1): Precursor 3-metoximetil-16β, 17β-epiestriol-O-cíclico sulfona (MMSE) (2) Substituição nucleofílica de [<sup>18</sup>F] flúor no precursor, gerando produto intermediário fluorado (3) e Formação de FES-<sup>18</sup>F após hidrólise ácida do intermediário.



Fonte: KNOTT et al (2011), adaptado.

Mesmo utilizando o mesmo módulo de síntese e precursor (MMSE), os rendimentos e níveis de pureza do produto irão variar de acordo com os reagentes, temperaturas de marcação e de hidrólise, e os métodos de purificação empregados.

Em OH et al. (2007), K<sub>222</sub> foi usado como eluente e a síntese começou com 74 GBq de <sup>18</sup>F. Após a fluoração de 2 mg do precursor, o produto foi hidrolisado 3 vezes por meio de evaporação azeotrópica, para prevenir a produção de subprodutos. Em seguida foi feita purificação por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), e o rendimento radioquímico corrigido de decaimento de FES-<sup>18</sup>F foi de 45,37 ± 2,8%. A pureza radioquímica foi de 98,27 ± 0,2% em até 6 horas após a síntese, e os resultados dos procedimentos de controle de qualidade mostraram que o FES-<sup>18</sup>F sintetizado foi adequado para uso clínico de rotina. Embora tenha sido observado que o rendimento radioquímico aumentou à medida que a quantidade de precursor aumenta (68,47 ± 5,2% a partir de 10 mg de

precursor), não foi possível separar completamente as impurezas orgânicas de FES-<sup>18</sup>F com quantidades maiores de precursor.

Em MORI et al. (2006) K<sub>222</sub> também foi usado como catalisador, e após a fluoração, a hidrólise consistiu em 2 passos e a purificação ocorreu por meio de CLAE. O rendimento do produto final para uso clínico foi de 42,4 ± 3,2% (n = 5, decaimento corrigido). A pureza radioquímica do produto final foi superior a 99%, sendo que o produto final foi estável por mais de 6 horas em solução salina com ascorbato de sódio.

Em KNOTT et al. (2011), a síntese começou com 196 MBq de <sup>18</sup>F, que foi eluído com (TBA-HCO<sub>3</sub>). A solução de [<sup>18</sup>F]TBA passou por destilação azeotrópica para remover a água e, em seguida, o precursor foi adicionado. Os autores investigaram as diferenças entre uso de TBA-HCO<sub>3</sub> e K<sub>222</sub> como catalisadores de transferência de fase na substituição nucleofílica do precursor. Usando a solução K<sub>222</sub> 2.2.2, apenas 7,7% de incorporação de [<sup>18</sup>F]fluoreto foi alcançada, enquanto a marcação aumentou até 74,7% usando TBA-HCO<sub>3</sub>.

Após a hidrólise, a mistura foi diluída em água e purificada por meio de 3 cartuchos diferentes de extração de fase sólida. Segundo os autores, as impurezas radioativas e não radioativas foram reduzidas pela combinação destes cartuchos de uso único e, ao utilizá-los, previne-se contaminação cruzada, possível quando se emprega cromatografia líquida de alta eficiência. Em seguida, os cartuchos foram lavados com etanol e o FES-<sup>18</sup>F eluído com etanol. Foram realizados procedimentos para reduzir o teor de etanol da solução e purificar o produto, para promover esterilização. Ao final, FES-<sup>18</sup>F foi obtido com rendimento radioquímico de 20 ± 5% (não corrigido para decaimento), com pureza radioquímica e química superiores a 99% e 95%, respectivamente, e o produto não mostrou sinais de decomposição por até 6 horas (KNOTT et al., 2011).

BISPO et al. (2021) realizaram a síntese de FES-<sup>18</sup>F com base no protocolo de KNOTT et al. (2011), utilizando o mesmo módulo. No entanto, obtiveram rendimento radioquímico de 10,54% (não corrigido para o decaimento), valor este abaixo do rendimento de 20 ± 5% (não corrigido para o decaimento) obtido por KNOTT et al. (2011).

A fim de aumentar o rendimento radioquímico de FES-<sup>18</sup>F, o catalisador de fase, a temperatura de reação de marcação, a temperatura de reação de hidrólise

e a transferência da solução radiofarmacêutica produzida para o frasco final foram variados a partir do protocolo original. Por fim, o protocolo de síntese no qual foi obtido maior rendimento ( $18,37 \pm 3,07\%$ , não corrigido para o decaimento) utilizou como catalisador de fase TBA-HCO<sub>3</sub>, 110 °C como temperatura de reação de marcação e de reação de hidrólise, e a transferência completa da solução radiofarmacêutica para o frasco final (BISPO et al., 2021). Na tabela 12 é apresentada uma comparação entre os métodos de produção de FES-<sup>18</sup>F mencionados.

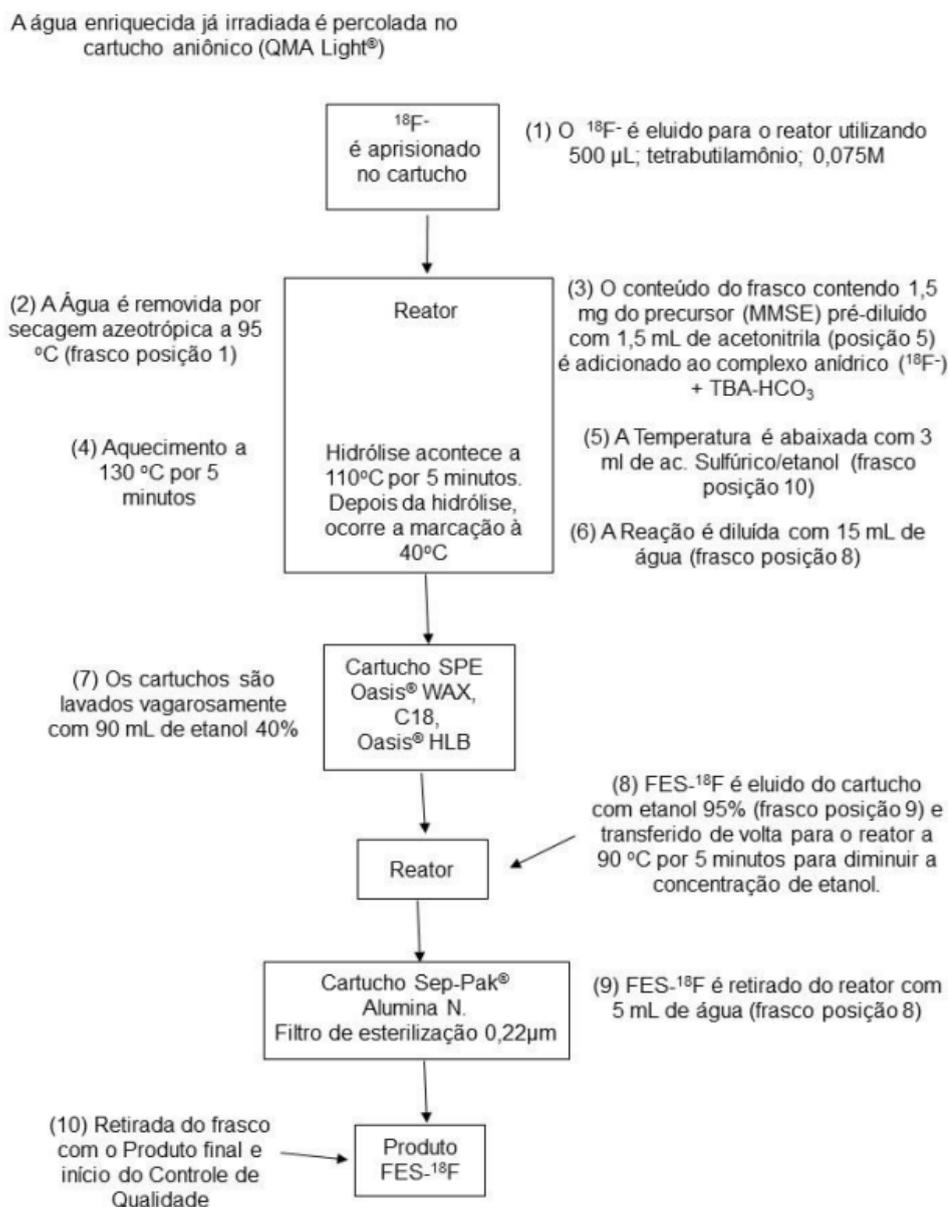
**Tabela 12 - Comparação entre métodos de produção de FES-<sup>18</sup>F**

<b>Estudo</b>	<b>Precursor</b>	<b>Catalisador</b>	<b>Rendimento (%)</b>
Balieiro et al. (2020)	MMSE	TBA-HCO <sub>3</sub>	11,9 ± 1,63
Bispo et al. (2021)	MMSE	TBA-HCO <sub>3</sub>	18,37 ± 3,07
Knott et al. (2011)	MMSE	TBA-HCO <sub>3</sub>	20 ± 5
Lim et al. (1996)	MMSE	Kryptofix 2.2.2	30 - 45
Mori et al. (2006)	MMSE	Kryptofix 2.2.2	42,4 ± 3,2
Oh et al. (2007)	MMSE	Kryptofix 2.2.2	45,3 ± 2,8
Römer et al. (1996)	MMSE	Kryptofix 2.2.2	Média 30
Römer et al. (1999)	MMSE	Kryptofix 2.2.2	Média 50

No IPEN, o FES-<sup>18</sup>F foi produzido utilizando o módulo de síntese automatizado GE TRACERlab™ MXFDG, com procedimento baseado principalmente no método de KNOTT et al. (2011). Um esquema do processo é apresentado na figura 3.

Foram realizadas oito sínteses, com diferentes tempos de irradiação e atividade de <sup>18</sup>F, que variaram entre 60 a 140 minutos, e 74 a 159,1 GBq (2,0 a 4,3 Ci), respectivamente. O rendimento médio para as sínteses com alta atividade de <sup>18</sup>F (159,1 GBq) foi de 12,1%, próximo ao rendimento médio com <sup>18</sup>F de baixa atividade (74 GBq), 11,9%. Desta forma, foi demonstrado que a atividade inicial de <sup>18</sup>F não interferiu no rendimento da produção (BALIEIRO, 2020).

**Figura 3 - Esquema do processo de produção do FES-<sup>18</sup>F no módulo GE TRACERlab™ MXFDG**



Fonte: BALIEIRO, 2020

Conforme descrito por BALIEIRO (2020), um lote produzido a partir de uma atividade de entrada de <sup>18</sup>F de 148GBq (4 Ci) produziu cerca de 17,8 GBq (480 mCi) de FES-<sup>18</sup>F. Considerando a atividade recomendada para administração do ESTROTEP de 140 a 280 MBq (3,78 a 7,57 mCi) para um paciente de 70 kg, e a atividade recomendada para administração do CERIANNA, de 111 a 222 MBq (3 a 6 mCi), um lote de produção do IPEN produziria cerca de 63 doses (CERIANNA,

2020; ESTROTEP, 2020), sem considerar o fator de decaimento para transporte, que depende da distância entre o centro produtor e a instituição clínica.

### **5.5.3. CONTROLE DE QUALIDADE DO FES-<sup>18</sup>F E EQUIVALÊNCIA ENTRE PRODUTOS**

A RDC 738/2022 preconiza que o controle de qualidade para liberação do radiofármaco, no caso de radiofármaco sujeito à isenção de registro, regularizado mediante notificação, deve seguir integralmente a monografia farmacopeica, sendo que na ausência de tal monografia, a metodologia deve ser fundamentada em literatura científica (BRASIL, RDC 738 de 28 de julho de 2022). Embora possam haver pequenas diferenças entre monografias farmacopeicas e metodologias descritas em literatura, os requisitos básicos no controle de qualidade de radiofármacos incluem identidade radionuclídica, pureza radionuclídica, pureza radioquímica, pureza química, pH, solventes residuais, endotoxina bacteriana e esterilidade.

Como não há monografia farmacopeica para o FES-<sup>18</sup>F, os ensaios de controle de qualidade realizados no IPEN foram baseados na literatura, incluindo monografias farmacopeicas para outros radiofármacos produzidos com o radionuclídeo <sup>18</sup>F. No IPEN, foram realizados testes de controle de qualidade para determinação da pureza radioquímica por cromatografia em camada delgada de sílica gel (CCD-SG) e cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE); ensaio de identidade e pureza radionuclídica, detecção do TBA-HCO<sub>3</sub> como impureza química, determinação de solvente residual (acetonitrila e etanol), determinação de endotoxinas bacterianas e teste de esterilidade (BALIEIRO, 2020).

A pureza radioquímica de um radiofármaco é definida como a fração de radioatividade total na forma química desejada no radiofármaco. Para a maioria dos radiofármacos o limite inferior de pureza radioquímica é de 95%, ou seja, pelo menos 95% do isótopo radioativo deve estar ligado ao ligante. Impurezas radioquímicas podem surgir devido à decomposição por ação do solvente, mudança de temperatura ou pH, luz, presença de agentes oxidantes ou redutores

e radiólise. A presença de impurezas radioquímicas resulta em imagens de baixa qualidade, devido à atividade de fundo alta gerada (SAHA, 1992).

O fluoreto [ $^{18}\text{F}^-$ ] é considerado como impureza química no processo de síntese do FES- $^{18}\text{F}$ , e é possível realizar a análise desta espécie radioquímica por meio da determinação de seu perfil cromatográfico em CCD-SG. No IPEN, o FES- $^{18}\text{F}$  é produzido em módulo automatizado que utiliza um sistema de purificação de cartuchos pré-condicionados (QMA, Oasis® WAX, Sep-Pak® C18, Oasis® HLB, Sep-Pak® Alumina-N), que removem as impurezas radionuclídicas, químicas e subprodutos do processo de síntese, garantindo pureza radioquímica e radionuclídica alta do produto final (BALIEIRO, 2020).

Utilizando as técnicas de cromatografia em camada delgada de sílica gel (CCD-SG) e cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE), e o critério de aceitação estabelecido em monografia do radiofármaco fludesoxiglicose (18 F) ( $\geq 95\%$ ) (FB, 2019; USP, 2018), o FES- $^{18}\text{F}$  produzido pelo IPEN obteve, em média,  $98,6 \pm 0,59\%$  de pureza radioquímica (BALIEIRO, 2020).

A pureza radionuclídica é, por sua vez, a quantidade de radioatividade devida ao radionuclídeo em questão, em comparação com a atividade medida da preparação radiofarmacêutica. Impurezas radionuclídicas podem ocorrer como resultado do processo de fabricação e para radionuclídeos produzidos em ciclotron pode haver contaminantes devido às impurezas no alvo ou pela energia da reação. A identidade radionuclídica é determinada medindo as meia-vida da preparação e a pureza radionuclídica é determinada a partir da avaliação das energias das radiações características emitidas por radionuclídeos individuais, e geralmente é expressa em porcentagem (SAHA, 1992).

No IPEN, as amostras de FES- $^{18}\text{F}$  foram analisadas utilizando um detector de germânio hiperpuro (HPGe) para controle da qualidade de pureza radionuclídica. O resultado desta análise mostrou que mais de 99,9% do produto apresentou características dos picos principais dos fótons de aniquilação dos pósitrons emitidos pelo fluor-18, de 0,511 KeV e 1,022 KeV. Com base no critério de aceitação de mais de 99,5 % adotado em monografia do radiofármaco fludesoxiglicose (18 F) da Farmacopeia Brasileira (FB, 2019), foi concluído que o produto do IPEN possui elevada pureza radionuclídica (BALIEIRO, 2020).

A identidade radionuclídica é fundamental na radiofarmácia, uma vez que o radionuclídeo utilizado determina a dose de radiação para o paciente, a biodistribuição do radiofármaco e a qualidade de imagens obtidas. A determinação do tempo de meia-vida física do flúor-18 em amostra do FES-<sup>18</sup>F foi realizada para caracterização da identidade radionuclídica do radiofármaco produzido no IPEN. O <sup>18</sup>F possui meia-vida física de 109,7 minutos (BASU et al., 2011), e o critério de aceitação adotado foi de 105 a 115 minutos, com base em monografia do radiofármaco fludesoxiglicose (18 F) descrito na Farmacopeia Brasileira (FB, 2019), pois este radiofármaco também emprega o elemento radioativo flúor-18. O resultado observado para o FES-<sup>18</sup>F produzido no IPEN foi de 109,5 minutos, atendendo ao critério de identidade radionuclídica (BALIEIRO, 2020).

O bicarbonato de tetrabutilamônio (TBA-HCO<sub>3</sub>) é um cátion de amônio quaternário frequentemente utilizado como catalisador de transferência de fase nas reações de marcação de muitos radiofármacos marcados com <sup>18</sup>F, como o FES-<sup>18</sup>F. Este elemento é considerado como impureza química, e os níveis de TBA-HCO<sub>3</sub> residual no produto acabado deve ser determinado antes de sua liberação e uso. Na Farmacopeia Europeia o limite de impurezas de TBA-HCO<sub>3</sub> em radiofármacos de <sup>18</sup>F é de 2,6 mg/V (FE, 2019).

Para determinação de TBA-HCO<sub>3</sub> no FES-<sup>18</sup>F produzido no IPEN foi realizado teste da mancha por cromatografia em camada delgada de sílica gel, utilizando padrão de TBA-HCO<sub>3</sub> (2,6 mg/V, sendo V o volume de 20 mL), a amostra do produto a ser avaliada e o controle negativo. Este método empregado no IPEN mostrou sensibilidade para detectar a concentração limite de TBA-HCO<sub>3</sub> estabelecida na Farmacopeia Europeia, e o produto final esteve dentro do critério de aceitação (BALIEIRO, 2020).

Os solventes residuais acetonitrila e etanol também devem ser determinados no produto acabado, pois ambos são considerados impurezas químicas. Seus níveis devem estar abaixo dos respectivos critérios de aceitação de 410 µg/mL<sup>-1</sup> (410 ppm) ou 0,04 % (USP, 2018; FB, 2019; DRAFT, 2020 para acetonitrila, e abaixo de 10 % para o etanol (FE, 2019; DRAFT, 2020). No IPEN, a determinação dos solventes residuais acetonitrila e etanol foi realizada por

cromatografia gasosa, e ambos ficaram dentro dos respectivos critérios de aceitação (Tabela 13).

Todos os radiofármacos para administração humana devem atender a critérios para endotoxinas bacterianas, pois estas podem causar uma resposta pirogênica (calafrios, febre, dor de cabeça, mialgia, mal-estar) quando administradas em humanos ou animais (SAHA, 1992).

No controle de qualidade do FES-<sup>18</sup>F no IPEN foi realizado teste LAL (*Limulus Amebocytes Lisate*) para a detecção de endotoxinas, um método que utiliza como reagente o lisado de amebócitos do sangue do caranguejo *Limulus polyphemus*. As Farmacopeias Brasileira (FB, 2019), Americana (USP, 2018) e Europeia (FE, 2019) descrevem o limite aceitável para os radiofármacos de 175 UE/dose, e o produto do IPEN mostrou níveis de endotoxina abaixo do critério de aceitação (Tabela 13).

Radiofármacos injetáveis também devem ser testados quanto à esterilidade do produto final, para comprovar que este é livre de microrganismos viáveis. Testes de esterilidade podem levar até duas semanas, tempo maior que a meia-vida de muitos radionuclídeos de vida curta utilizados na prática clínica. Nesses casos, o produto em questão é liberado para uso humano desde que o fabricante já tenha estabelecido sua esterilidade e limite de endotoxinas bacterianas em nível de produção (SAHA, 1992). O ensaio de esterilidade do FES-<sup>18</sup>F produzido no IPEN foi realizado por método de inoculação direta descrito na Farmacopéia Brasileira (FB, 2019). Para o produto ser considerado estéril não pode haver turvação do meio após o período de incubação de 14 dias, e não foi observado crescimento microbiano no produto do IPEN (Tabela 13).

Conforme apresentado na tabela 13, a comparação entre os critérios de aceitação do produto do IPEN e do produto aprovado nos Estados Unidos dá indícios que as rotas de síntese e/ou de purificação podem ser diferentes, por conta das diferenças entre as impurezas químicas e solventes residuais entre os produtos.

**Tabela 13 - Resultados médios dos ensaios de controle de qualidade para 8 lotes de FES-<sup>18</sup>F produzidos no IPEN (BALIEIRO et al., 2021)**

Teste	Resultado*	Critério de aceitação IPEN	Critério Referência IPEN	Critério CERIANNA (DRAFT, 2020)
Identidade Radionuclídica	109,5 ± 0,5 minutos	105 - 115	FB - fludesoxiglicose (18 F)	Meia-vida mensurada 100 – 120 minutos
Pureza Radionuclídica	100 %	> 99,5 %	FB - fludesoxiglicose (18 F)	Não informado
Descrição	Límpido e incolor	Límpido e incolor	-	Límpido e incolor
Pureza Radioquímica	98,6 %	≥ 95 %	-	> 95%
Impureza Química	< 2,6 mg/V (TBA-HCO <sub>3</sub> )	< 2,6 mg/V (TBA-HCO <sub>3</sub> )	FE - fluorodopa (18 F)	< 50 µg/mL Kryptofix®
pH	6,5	4,0 - 7,5	Draft fluorestradiol (18 F)	6 – 8
Solventes residuais	Acetonitrila - LQ	< 410 ppm	FB - fludesoxiglicose (18F)	Acetonitrila < 400 ppm
	Etanol - 4,1 ± 1,25 %	< 10 %	FE - fluorodopa (18 F)	Acetona < 5,000 ppm
LAL	12,5 UE mL <sup>-1</sup>	< 175 UE mL <sup>-1</sup>	FB - fludesoxiglicose (18 F)	< 175 UE por dose
Esterilidade	Negativo	Negativo	FB - fludesoxiglicose (18 F)	Nenhum crescimento observado em 14 dias

\* resultados – valores médios de lotes piloto

Fonte: BALIEIRO et al. (2021). FB = Farmacopeia Brasileira; FE = Farmacopeia Europeia; LQ = limite de quantificação

Para o CERIANNA, considera-se como impureza química a presença do catalisador de fase Kryptofix, enquanto que no IPEN é utilizado o TBA-HCO<sub>3</sub>. O IPEN utilizou como critério de referência a monografia farmacopeica europeia para o radiofármaco fluorodopa (18 F), o qual também utiliza flúor-18, e os resultados obtidos estão dentro do critério de aceitação. Quanto aos testes de solvente residual, o produto do IPEN também utiliza como critério de referência a

monografia farmacopeica europeia do fluorodopa (18 F), para avaliar a presença de etanol na formulação final, enquanto que para o CERIANNA considera-se a acetona como solvente residual.

Todavia, tais diferenças estão relacionadas às particularidades dos métodos de síntese e purificação, e cada atributo de qualidade é controlado a partir dos limites estabelecidos nos critérios de aceitação dos respectivos ensaios, sem interferência na eficácia do produto final.

Quanto ao critério de pH, o IPEN estabeleceu uma faixa, com base no valor obtido para o produto nas sínteses de lotes piloto (BALIERIO, 2020). A formulação final do produto do IPEN apresentou pH apropriado para administração intravenosa, próximo do pH fisiológico, e sendo que a formulação do IPEN apresenta apenas água para injetável como veículo, sem utilização de solução tampão ou cloreto de sódio, o pH final do produto é atribuído ao pH da própria água para injetável.

No IPEN, também foram realizados estudos de estabilidade do FES-<sup>18</sup>F em temperatura ambiente por 6 horas, com intervalos de 1 hora. Foi observado que o FES-<sup>18</sup>F apresenta estabilidade por 6 horas após a sua síntese, e não houveram desvios na pureza radioquímica do produto durante os ensaios, muito embora o produto não apresente excipientes adicionais do tipo estabilizantes em sua composição (BALIERIO, 2020).

**Tabela 14 - Características químicas do FES-<sup>18</sup>F IPEN comparado aos produtos aprovado para uso nos EUA e na França**

<b>PRODUTO</b>	<b>COMPOSIÇÃO (conforme bula para produtos comerciais)</b>
FES- <sup>18</sup> F IPEN (BALIEIRO, 2020)	Solução límpida e incolor de fluorestradiol (18 F), pH de 4,0 a 7,5, concentração radioativa de 6 a 24 mCi/mL <sup>[1]</sup> em água para injetável, e etanol não mais que 10%.
CERIANNA (CERIANNA, 2020)	“CERIANNA é uma solução estéril, límpida e incolor para injeção intravenosa, com osmolaridade de 340 mOsm. Seu pH varia entre 4,5 a 7,0. A composição do produto final em solução de 40 mL é fluorestradiol não superior a 5 µg, fluorestradiol (18 F) 148 MBq/mL a 3.700 MBq/mL (4 mCi/mL a 100 mCi/mL), ascorbato de sódio 0,44% p/v em cloreto de sódio 0,9% p/v e etanol não mais que 3,2% p/v.”
ESTROTEP	“Cada mL de solução injetável contém 500 MBq de fluorestradiol (18 F) na data e hora da calibração. A atividade por frasco está entre 100 MBq e 5000

PRODUTO	COMPOSIÇÃO (conforme bula para produtos comerciais)
(ESTROTEP, 2020)	MBq na data e hora da calibração. O flúor-18 decai para oxigênio-18 estável com meia-vida de cerca de 110 min emitindo radiação de pósitrons com uma energia máxima de 634 keV, seguida por radiação de aniquilação de fótons de 511 keV. Excipientes com efeito conhecido: Este medicamento contém 3,9 mg de sódio por mL e 28 mg de etanol por mL. Lista de excipientes: ascorbato de sódio, cloreto de sódio, etanol."

[1] concentração baseada nos lotes experimentais que empregaram atividade de fluoreto (18F-) de 1 a 4 Ci.

Considerando as informações apresentadas na tabela 14, os produtos podem ser considerados equivalentes, pois apresentam o mesmo princípio ativo fluoroestradiol (18 F), o qual possui propriedades farmacocinéticas intrínsecas e eficácia diagnóstica comprovada. Os excipientes que diferem entre as distintas formulações, como ascorbato de sódio e cloreto de sódio, não interferem em tais propriedades:

Todas as preparações apresentam etanol na composição, que pode ser utilizado na síntese de radiofármacos para aumentar a solubilidade de marcadores altamente lipofílicos, para diminuir a adsorção a frascos, filtros de membrana e seringas de injeção, ou como solvente para eluição do radiofármaco (SERDONS et al., 2008). O etanol é considerado como solvente classe 3, que não inclui nenhum solvente conhecido como perigoso para a saúde humana em níveis normalmente aceitos em produtos farmacêuticos (USP, 2022).

No caso da formulação do IPEN, o etanol está presente em decorrência do processo de purificação final do produto, em porcentagens diferentes, atendendo a critérios de aceitação específicos, porém, todos dentro do limite máximo estabelecido no capítulo 467 da farmacopeia americana (5000 ppm ou 0.5% peso/peso) (USP, 2022).

## 6. PROPOSTA DE ANÁLISE DE RISCO PARA RADIOFÁRMACOS

Conforme indicado na RDC 738/2022, o produtor de um radiofármaco novo no país deve submeter dados que comprovem sua eficácia e segurança, tanto para fins de registro do radiofármaco, quanto para sua regularização por meio de notificação (BRASIL, RDC 738 de 28 de julho de 2022). Tal análise se mostra relevante, uma vez que o perfil de risco-benefício para a sociedade deve refletir não apenas quantos pacientes podem se beneficiar de uma terapia e em que medida, mas também as incertezas associadas aos seus benefícios e riscos (CIOMS, 1998).

A análise de eficácia e segurança de um medicamento deve envolver o parecer sobre a relação entre os benefícios esperados de um produto e seus riscos potenciais, uma vez que os efeitos desejados de um medicamento devem superar seus efeitos indesejados. A tarefa de pesar os benefícios e riscos de um medicamento é um processo complexo, pois envolve a avaliação de uma grande quantidade de dados, e também pois há sempre alguma incerteza em torno dos benefícios e riscos reais de um medicamento, uma vez que eles podem ser subjetivos ou de difícil quantificação.

Até poucas décadas atrás, as análises de eficácia e segurança eram realizadas de forma mais subjetiva e não estruturada, e foi observada a crescente necessidade de uma avaliação mais sistemática para garantir a consistência em sua interpretação (JUHAERI, 2019).

O primeiro grande marco no caminho para abordagens mais sistemáticas ocorreu com a publicação do relatório *Benefit–risk balance for marketed drugs: evaluating safety signal*, do Conselho de Organizações Internacionais de Ciências Médicas (do inglês *Council for International Organizations of Medical Sciences*,

CIOMS). Este relatório reconheceu a natureza subjetiva das avaliações de eficácia e segurança realizadas na época e apresentou estratégias e recomendações para realização de análises mais objetivas e estruturadas (CIOMS, 1998).

Com o propósito de desenvolver um conjunto de processos e para selecionar, organizar, resumir e interpretar dados relevantes para tomadas de decisões baseadas em avaliações de eficácia e segurança, o *Pharmaceutical Research and Manufacturers of America*, um grupo comercial que representa empresas da indústria farmacêutica nos Estados Unidos, criou o *Benefit Risk Action Team (BRAT) Framework* (JUHAERI, 2019).

O *BRAT Framework* é um processo que consiste em seis etapas: definir o contexto, identificar os resultados, identificar as fontes de dados, personalizar a análise, avaliar a importância do resultado e exibir e interpretar as principais métricas de eficácia e segurança. Com isso, esta ferramenta fornece uma plataforma padronizada e flexível para incorporar os resultados de estudo e critérios de preferência, bem como para comunicar os fundamentos para tomadas de decisões (COPLAN et al., 2011).

Nos anos seguintes, agências sanitárias internacionais, como a *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos, e a *European Medicines Agency* (EMA), da União Europeia, também desenvolveram e testaram diferentes metodologias para a análise de eficácia e segurança para o contexto regulatório.

A EMA liderou o projeto “*Benefit-risk methodology project*”, cujo objetivo principal foi o desenvolvimento e teste de ferramentas e processos para análise de benefícios e riscos, e que podem ser usados como auxílio para decisões regulatórias sobre medicamentos. No relatório final do projeto, a agência sugeriu dois modelos, o PrOACT-URL para abordagem qualitativa de 8 passos (problema, objetivos, alternativas, consequências, avaliação do equilíbrio entre efeitos favoráveis e desfavoráveis, incerteza, tolerância ao risco e decisões vinculadas), que pode ser suficiente para a maioria dos casos; e o modelo MCDA (análise de decisão multicritério) para abordagem quantitativa, seguindo os oito passos do PrOACT-URL, adequado para situações mais complexas (EMA, 2012; JUHAERI, 2019).

Já a avaliação de segurança e eficácia realizada pelo FDA ocorre por meio do *Benefit-Risk Framework*, implementado a fim de melhorar a clareza e transparência das avaliações de eficácia e segurança realizadas pela agência. Esta metodologia fornece uma abordagem estruturada e qualitativa para identificar, avaliar e tirar conclusões sobre os principais fatores envolvidos na avaliação de eficácia e segurança. Este modelo foi estruturado com os principais fatores de decisão, sendo eles: análise da condição, opções de tratamento atuais, benefício, risco e gerenciamento de risco. Cada fator é avaliado sob a ótica de dois componentes: evidências e incertezas e conclusões e razões (tabela 15) (FDA, 2018a; JUHAERI, 2019).

Para aprovação do radiofármaco CERIANNA nos Estados Unidos, a avaliação multidisciplinar do FDA apresentou uma análise de eficácia e segurança conforme o modelo *Benefit-Risk Framework* (FDA, 2018a), estruturado na Tabela 15.

**Tabela 15 - *Benefit-Risk Framework* do FDA**

<b>Resumo e Avaliação de Risco-Benefício</b>		
<b>Dimensão</b>	<b>Evidências e incertezas</b>	<b>Conclusões e racional</b>
<b>Análise da condição</b>		
<b>Opções de tratamento atuais</b>		
<b>Benefícios</b>		
<b>Riscos e gerenciamento de riscos</b>		

Fonte: FDA (2018b)

Uma análise de eficácia e segurança deve incluir uma discussão sobre os benefícios do medicamento proposto, uma vez que os efeitos benéficos são a base para seu uso. O benefício pode ser definido em termos do indivíduo que está sendo tratado ou do benefício para a sociedade como um todo. A discussão

dos benefícios deve considerar a epidemiologia e a história natural da doença em questão, a finalidade ou resultado pretendido do medicamento, as evidências sobre as quais os benefícios foram estabelecidos e a disponibilidade de terapias alternativas (CIOMS, 1998).

No caso do FES-<sup>18</sup>F, um radiofármaco utilizado para fins diagnósticos, esta análise leva em conta a necessidade de técnicas diagnósticas capazes de identificar lesões positivas para RE em pacientes com câncer de mama metastático ou avançado. Sendo que atualmente estão disponíveis apenas técnicas para diagnóstico *in vitro* para a avaliação da expressão de RE, não há outras opções diagnósticas para uso clínico com a mesma finalidade do FES-<sup>18</sup>F (KURLAND et al., 2020; VAN KRUCHTEN et al., 2013)

Enquanto os benefícios dos medicamentos são geralmente representados como um ou mais de um resultado bem definido, os riscos geralmente incluem uma mistura de reações adversas de diferentes tipos, cujo impacto médico é caracterizado por sua frequência de ocorrência, duração e intensidade. As reações adversas podem ser relacionadas à ação farmacológica de um medicamento, ocorrendo de forma dependente da dose e com maior probabilidade de ocorrência, ou como reações alérgicas e idiossincráticas, não são previsíveis nem dose-dependentes (CIOMS, 1998).

Assim como outros radiofármacos emissores de pósitrons utilizados para imagem PET, o FES-<sup>18</sup>F apresenta risco de exposição à radiação, especialmente ao paciente, mas também aos profissionais de saúde envolvidos com o procedimento. Além disso, por se tratar de um radiofármaco de administração intravenosa, há o risco de reação alérgica e dor no momento da injeção. Considerando que a captação de FES-<sup>18</sup>F ocorre apenas onde há expressão de RE, mas não é necessariamente específica à lesão tumoral, há também o risco de erro de diagnóstico associado ao exame PET com FES-<sup>18</sup>F (DRAFT, 2020).

Antes da comercialização, os ensaios clínicos e não-clínicos são a fonte de dados sobre eficácia em humanos, e também fornecem dados sobre os riscos dos medicamentos em desenvolvimento. Tais evidências apresentadas no contexto de pré-aprovação do medicamento devem ser avaliadas com cautela, considerando os pontos fortes e as limitações do desenho do estudo, a relevância clínica dos desfechos do estudo, o significado clínico dos resultados demonstrados, e a

capacidade de prever quais pacientes podem se beneficiar (KIMMELMAN et al., 2017).

Além de fornecer a contextualização da doença em questão e de listar os benefícios e riscos do medicamento, a análise de eficácia e segurança está sujeita às incertezas sobre os benefícios e riscos do produto para os pacientes e deve considerar tais incertezas na avaliação do medicamento. Mesmo em um cenário pós-aprovação, e especialmente no contexto pré-mercado, o corpo de evidências é incompleto, criando assim a necessidade de julgamento crítico científico e regulatório para determinar se os benefícios do produto superam os riscos, apesar das incertezas. Algumas incertezas podem ser antecipadas com base no planejamento do estudo, como a incerteza associada à escolha dos grupos, duração do estudo, definição dos desfechos do estudo, critérios de exclusão, garantia da qualidade dos dados e controles do processo de fabricação (CIOMS, 1998).

Na análise de eficácia e segurança realizada pelo FDA para o FES-<sup>18</sup>F foi destacada a indicação de uso para o radiofármaco e os estudos em humanos que avaliaram a acurácia do PET com FES-<sup>18</sup>F para tal indicação, na população alvo. Além disso, foram apresentadas informações de segurança relacionadas aos possíveis riscos da exposição à radiação ionizante, erro na interpretação diagnóstica (falsos-negativos e captação não específica à lesão tumoral), reações adversas e óbito. O apêndice A resume os achados desta avaliação realizada pelo FDA (FDA, 2018b) acrescida dos estudos de eficácia e segurança do FES-<sup>18</sup>F relacionados neste presente trabalho, inclusive os relacionados ao estudo com o radiofármaco CERIANNA, complementando a análise de eficácia e segurança para utilização do radiofármaco no Brasil. Não foi possível localizar a análise de eficácia e segurança realizada para aprovação do radiofármaco ESTROTEP.

Em última análise, o parecer sobre eficácia e segurança de um medicamento considera o que é importante para os pacientes, bem como o que é importante para a saúde pública. Tanto o fabricante quanto as entidades regulatórias têm como responsabilidade apurar os benefícios e riscos, dentro do contexto terapêutico, para determinar se o medicamento em questão terá um impacto positivo para os pacientes e a sociedade como um todo.

Para a análise de eficácia e segurança proposta neste trabalho, foram considerados os principais estudos de eficácia submetidos pelo fabricante dos produtos aprovados na França e nos Estados Unidos, bem como estudos encontrados na literatura. O grau de evidência atualmente disponível suporta o uso da técnica, uma vez que seus benefícios superam os possíveis riscos associados. Com isso, a análise proposta julga como favorável o uso de FES-<sup>18</sup>F para diagnósticos de lesões RE+ em pacientes com câncer de mama metastático ou recorrente, conforme indicado nas bulas dos produtos aprovados no exterior (CERIANNA 2020; ESTROTEP, 2020).

## 7. CONCLUSÃO

A partir do levantamento de dados clínicos e não-clínicos sobre o  $16\alpha^{18}\text{F}$ -fluoro- $17\beta$ -estradiol (FES- $^{18}\text{F}$ ) foi possível verificar que este radiofármaco, atualmente aprovado para uso clínico nos Estados Unidos e na França, possui captação específica ao receptor de estrogênio (RE), que é superexpresso em aproximadamente 70% das pacientes com câncer de mama.

Levando em consideração as evidências que suportam o benefício do FES- $^{18}\text{F}$  PET para detecção de lesões RE+ e os dados da literatura que mostram o baixo risco associado à técnica, a introdução deste radiofármaco no Brasil pode significar um grande avanço no manejo de pacientes com câncer de mama metastático ou recorrente.

Novos radiofármacos são em grande parte desenvolvidos em universidades e hospitais e são preparados em pequena escala em um ambiente não industrial (DECRISTOFORO et al., 2014). Caso um novo radiofármaco tenha potencial técnico (meia-vida) e clínico para ser produzido e distribuído comercialmente, as empresas farmacêuticas de grande porte geralmente acabam por substituir os centros de pesquisa acadêmicos, e fornecem financiamento para estudos clínicos além da fase 0/fase I (HENDRIKSE et al., 2022).

O IPEN, como centro de referência para pesquisas com radiofármacos no país, pretende realizar estudos clínicos com FES- $^{18}\text{F}$ , conforme determinado pela legislação, para viabilizar o registro deste radiofármaco inovador. Uma alternativa ao registro é a comercialização mediante notificação, possibilitada pelas recentes mudanças na legislação de radiofármacos no país.

Embora a comercialização mediante notificação traga facilidade para introdução de novos radiofármacos no mercado, a maior parte da população terá

acesso limitado aos radiofármacos que forem comercializados desta forma, tendo em vista o alto custo para aquisição do produto.

Portanto, para que a tecnologia seja incorporada no Sistema Único de Saúde ou no rol da Agência Nacional de Saúde, e possa atingir número maior de usuários, é necessário que o produto seja efetivamente registrado. Para tanto, é preciso realizar ensaios clínicos com o produto de interesse, seguindo as determinações da RDC 09/2015.

Sendo que a RDC 738/2022 abre as possibilidades de comercialização de novos radiofármacos por meio do registro e da notificação, este trabalho contribui para ambas as frentes. O levantamento da literatura realizado como subsídio para confecção da brochura do investigador, que faz parte da documentação necessária para realização de ensaios clínicos segundo a RDC 09/2015, também contribuiu para a proposta de análise de eficácia e segurança a ser apresentada no contexto de comercialização mediante notificação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALIAGA, A.; ROUSSEAU J. A.; OUELLETTE, R.; CADORETTE, J.; VAN LIER, J. E.; LECOMTE, R.; BÉNARD, F. Breast cancer models to study the expression of estrogen receptors with small animal PET imaging. *Nuclear Medicine and Biology*, v. 31, n. 6, p. 761-770, 2004.
- ALLISON, K. H.; HAMMOND, M. E. H.; DOWSETT, M.; MCKERNIN, S. E.; CAREY, L. A.; FITZGIBBONS, P. L.; HAYES, D. F.; LAKHANI, S. R.; CHAVEZ-MACGREGOR, M.; PERLMUTTER, J.; PEROU, C. M.; REGAN, M. M.; RIMM, D. L.; SYMMANS, W. F.; TORLAKOVIC, E. E.; VARELLA, L.; VIALE, G.; WEISBERG, T. F.; MCSHANE, L. M.; WOLFF, A.C. Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*, v. 38, n. 12, p. 1346-1366, 2020.
- ANTUNES, I. F.; VAN WAARDE, A.; DIERCKX, R. A. J. O.; DE VRIES, E. G. E.; HOSPERS, G. A. P.; DE VRIES, E. F. J. Synthesis and Evaluation of the Estrogen Receptor  $\beta$ -Selective Radioligand 2- $^{18}\text{F}$ -Fluoro-6-(6-Hydroxynaphthalen-2-yl)Pyridin-3-ol: Comparison with 16 $\alpha$ - $^{18}\text{F}$ -Fluoro-17 $\beta$ -Estradiol. *Journal of Nuclear Medicine*, v. 58, n. 4, p. 554-559, 2017.
- AURILIO, G.; DISALVATORE, D.; PRUNERI, G.; BAGNARDI, V.; VIALE, G.; CURIGLIANO, G.; ADAMOLI, L.; MUNZONE, E.; SCIANDIVASCI, A.; DE VITA, F.; GOLDHIRSCH, A.; NOLÈ, F. A meta-analysis of oestrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 discordance between primary breast cancer and metastases. *European Journal of Cancer*, v. 50, n. 2, p. 277-289, 2014.
- BALIEIRO, L. M. *Estudo para implantação do processo de produção do radiofármaco FES- $^{18}\text{F}$  em sistema automatizado: abordagem de validação de processo e de métodos analíticos*. 2020, 120 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear. Área de concentração (Aplicações). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo
- BALIEIRO, L. M.; TEIXEIRA, H. B.; BELLINI, M. H.; MATSUDA, M. M. N.; ARAUJO, E. B. Study of the automated synthesis of the radiopharmaceutical [ $^{18}\text{F}$ ]fluoroestradiol. *Brazilian Journal of Radiation Sciences*, v. 9, p. 01-18, 2021.
- BASU, S.; KWEE, T. C.; SURTI, S.; AKIN, E. A.; YOO, D.; ALAVI, A. Fundamentals of PET and PET/CT imaging. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1228, n. 1, 2011.
- BISPO, A. C. A.; NASCIMENTO, L. T. C.; CASTRO, A. C. F.; LIMA, L. A. R.; FERREIRA, S. M. Z. M. D.; SILVA, J. B.; MAMEDE, M. Synthesis and characterization of the radiopharmaceutical [ $^{18}\text{F}$ ]fluoroestradiol. *Brazilian Journal of Radiation Sciences*, v. 9, n. 1A, p. 1-11, 2021.

BLOWS, F. M.; DRIVER, K. E.; SCHMIDT, M. K.; ANNEGIEEN, B.; VAN LEEUWEN, F. E.; WESSELING, J.; CHEANG, M. C.; GELMON, K.; NIELSEN, T. O.; BLOMQUIST, C.; HEIKKILÄ, P.; HEIKKINEN, T.; NEVANLINNA, H.; AKSLEN, L. A.; BÉGIN, L. R.; FOULKES, W. D.; COUCH, F. J.; WANG, X.; CAFOUREK, V.; OLSON, J. E.; BAGLIETTO, L.; GILES, G. G.; SEVERI, G.; MCLEAN, C. A.; SOUTHEY, M. C.; RAKHA, E.; GREEN, A. R.; ELLIS, I. O.; SHERMAN, M. E.; LISSOWSKA, J.; ANDERSON, W. F.; COX, A.; CROSS, S. S.; REED, M. W. R.; PROVENZANO, E.; DAWSON, S.; DUNNING, A. M.; HUMPHREYS, M.; EASTON, D. F.; GARCÍA-CLOSAS, M.; CALDAS, C.; PHAROAH, P. D.; HUNTSMAN, D. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Medicine*, v. 7, n. 5, e1000279, 2010.

BRASIL. Emenda constitucional nº 49, de 8 de fevereiro de 2006. Altera os art. 21 e art. 177 da Constituição Federal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 8 fev 2006. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/constituicao/emendas/emc/emc49.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/emendas/emc/emc49.htm)>. Acesso em: 09 julho, 2022

BRASIL. Emenda constitucional nº 118, de 24 de abril de 2022. Dá nova redação ao art. 21 da Constituição Federal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 abr 2022. Edição 78, seção 1, p. 1.

BRASIL. Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 dez 1999. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l9782.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9782.htm)>. Acesso em: 09 julho, 2022

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada, n. 09 de 20 de fevereiro de 2015. **Diário Oficial da União**, Brasília, 3 de março de 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada, n. 64 de 18 de dezembro de 2009. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. Disponível em: <[https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2009/res0064\\_18\\_12\\_2009.html](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2009/res0064_18_12_2009.html)>. Acesso em: 09 de julho de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada, n. 63 de 18 de dezembro de 2009. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 de dezembro de 2009. Seção 1, p.73.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada, n. 451 de 16 de dezembro de 2020. **Diário Oficial da União**, Brasília, de 23 de dezembro de 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada, n. 738 de 28 de julho de 2022. **Diário Oficial da União**, Brasília, de 01 de agosto de 2022.

CARDOSO, F.; KYRIAKIDES, S.; OHNO, S.; PENNAULT-LLORCA, F.; POORTMANS, P.; RUBIO, I. T.; ZACKRISSON, S.; SENKUS, E. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology**, v. 30, n. 8, p. 1194-1220, 2019.

CHAE, S. Y.; AHN, S. H.; KIM, S. B.; HAN, S.; LEE, S. H.; OH, S. J.; LEE, S. H.; KIM, H. J.; KO, B. S.; LEE, J. W.; SON, B. H.; KIM, J.; AHN, J. H.; JUNG, K. H.; KIM, J. E.; KIM, S. Y.; CHOI, W. J.; SHIN, H. J.; GONG, G.; LEE, H. S.; LEE, J. B.; MOON, D. H. Diagnostic accuracy and safety of 16alpha-[<sup>18</sup>F]fluoro-17beta-oestradiol PET-CT for the assessment of oestrogen receptor status in recurrent or metastatic lesions in patients with breast cancer: a prospective cohort study. **Lancet Oncology**, v. 20, n. 4, p. 546-555, 2019.

CERIANNA. Bula do medicamento Cerianna®, Zionexa. Disponível em: <[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2020/212155s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/212155s000lbl.pdf)>. Acesso em: 02/11/2020

CIOMS. **Council for International Organizations of Medical Sciences**. Benefit-Risk Balance for Marketed Drugs: Evaluating Safety Signals, Genebra, 1998.

COPLAN, P. M.; NOEL, R. A.; LEVITAN, B. S.; FERGUSON, J.; MUSSEN, F. Development of a Framework for Enhancing the Transparency, Reproducibility and Communication of the Benefit–Risk Balance of Medicines. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 89, n. 2, p. 312-315, 2011.

DECRISTOFORO, C.; PENUELAS, I.; ELSINGA, P.; BALLINGER, J.; WINHORST, A. D.; VERBRUGGEN, A.; VERZIJBERGEN, F.; CHITI, A. Radiopharmaceuticals are special, but is this recognized? The possible impact of the new Clinical Trials Regulation on the preparation of radiopharmaceuticals. **European journal of nuclear medicine and molecular imaging**, v. 41, p. 2005-2007, 2014.

DEHDASHTI, F.; MORTIMER, J. E.; TRINKAUS, K.; NAUGHTON, M. J.; ELLIS, M.; KATZENELLENBOGEN, A.; WELCH, M. J.; SIEGEL, B. A. PET-based estradiol challenge as a predictive biomarker of response to endocrine therapy in women with estrogen-receptor-positive breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 113, n. 3, p. 509-517, 2009

DOWNER, J. B.; JONES, L. A.; KATZENELLENBOGEN, J. A.; WELCH, M. J. Effect of administration route on FES uptake into MCF-7 tumors, **Nuclear Medicine Biology**, v. 28, n. 4, p. 397-399, 2001

DRAFT; An Investigational Positron Emission Tomography (PET) Radiopharmaceutical for Injection, Intended for use as an IN VIVO diagnostic for imaging estrogen receptors in tumors, Draft of Investigator's Brochure for

[18F]Fluoroestradiol, ed 6, 2020. Disponível em <[https://imaging.cancer.gov/programs\\_resources/cancer-tracer-synthesis-resources/docs/fes\\_ib\\_pdf.pdf](https://imaging.cancer.gov/programs_resources/cancer-tracer-synthesis-resources/docs/fes_ib_pdf.pdf)>, acessado em 27 de setembro de 2022.

ESTROTEP. Bula do medicamento EstroTep®, Zionexa. Disponível em: <<http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=64307631&type doc=R&ref=R0336330.htm>>. Acesso em: 02/11/2020

ESTADOS UNIDOS. Food and Drug Administration. Multi-Discipline Review for CERIANN, 12 de outubro de 2018. Acesso em 23 de agosto de 2022, disponível em: <[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2020/212155Orig1s000TOC.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2020/212155Orig1s000TOC.cfm)>

EMA. Benefit-risk methodology project, Work package 4 report: Benefit-risk tools and processes. **European Medicines Agency**, 9 de maio de 2012. Disponível em <[https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/benefit-risk-methodology-project-work-package-4-report-benefit-risk-tools-processes\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/benefit-risk-methodology-project-work-package-4-report-benefit-risk-tools-processes_en.pdf)>, acessado em 27 de setembro de 2022.

EVANGELISTA, L.; DIECI, M. V.; GUARNERI, V.; CONTE, P. F. <sup>18</sup>F-Fluoroestradiol Positron Emission Tomography in Breast Cancer Patients: Systematic Review of the Literature & Meta-Analysis. **Current Radiopharmaceuticals**, v. 9, n. 3, p. 244-257, 2016.

FB, FARMACOPEIA BRASILEIRA. 2019; **Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA**, 6. ed. v. 2. Brasília, Brasil, 2019.

FDA. Food and Drug Administration. Benefit-Risk Assessment In Drug Regulatory Decision-Making, Draft PDUFA VI Implementation Plan (FY 2018-2022). 30 de março de 2018 (2018a), disponível em <<https://www.fda.gov/industry/prescription-drug-user-fee-amendments/enhancing-benefit-risk-assessment-regulatory-decision-making>> acessado em 29 de setembro de 2022.

FDA. Food and Drug Administration. NDA 212155 18F-Fluoroestradiol Multi-disciplinary Review and Evaluation. 12 de outubro de 2018 (2018b), disponível em <[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2020/212155Orig1s000Multi-disciplineR.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2020/212155Orig1s000Multi-disciplineR.pdf)> acessado em 29 de setembro de 2022.

FE, FARMACOPEIA EUROPÉIA; **EUROPEAN PHARMACOPEIA**, 9.7 ed. v. 1 e 2. Strasbourg, França, 2019.

FOUKAKIS, T.; ÅSTRÖM, G.; LINDSTRÖM, L.; HATSCHEK, T.; BERGH, J. When to order a biopsy to characterise a metastatic relapse in breast cancer. **Annals of Oncology**, v. 23, p. x349-x353, 2012. Supplement 10.

FRANÇA. Haute Autorité de Santé. Commission de la Transparence et Commission Nationale d'évaluation des Dispositifs Médicaux et Technologies de

Sante, 18 de fevereiro de 2020. Acesso em 23 de agosto de 2022, disponível em: <[https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3161190/fr/estrotep-fluoroestradiol-18f](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3161190/fr/estrotep-fluoroestradiol-18f)>

FRYBACK, D. G.; THORNBURY, J. R. The Efficacy of Diagnostic Imaging. ***Medical Decision Making : An International Journal Of The Society For Medical Decision Making***, v. 11, n. 2, p. 88-94, 1991

GEMIGNANI, M. L.; PATIL, S.; SESHAN, V. E.; SAMPSON, M.; HUMM, J. L.; LEWIS, J. S.; BROGI, E.; LARSON, S. M.; MORROW, M.; PANDIT-TASKAR, N. Feasibility and predictability of perioperative PET and estrogen receptor ligand in patients with invasive breast cancer. ***Journal Of Nuclear Medicine: Official Publication, Society Of Nuclear Medicine***, v. 54, n. 10, p. 1697-702, 2013.

HARBECK, N.; PENNAULT-LLORCA, F.; CORTES, J.; GNANT, M.; HOUSSAMI, N.; POORTMANS, P.; RUDDY, K.; TSANG, J.; CARDOSO, F. Breast cancer. ***Nature Reviews. Disease Primers***, v. 5, n. 1, 2019.

HE, S.; WANG, M.; YANG, Z.; ZHANG, J.; ZHANG, Y.; LUO, J.; ZHANG, Y. Comparison of  $^{18}\text{F}$ -FES,  $^{18}\text{F}$ -FDG, and  $^{18}\text{F}$ -FMISO PET Imaging Probes for Early Prediction and Monitoring of Response to Endocrine Therapy in a Mouse Xenograft Model of ER-Positive Breast Cancer. ***PLoS One***, v. 11, n. 7, e0159916, 2016.

HEIDARI, P.; DENG, f.; ESFAHANI, S. A.; LEECE, A. K.; SHOUP, T. M.; VASDEV, N.; MAHMOOD, U. Pharmacodynamic imaging guides dosing of a selective estrogen receptor degrader. ***Clinical Cancer Research***, v. 21, n. 6, p. 1340-1347, 2015

HENDRIKSE, H.; KISS, O.; KUNIKOWSKA, J.; WADSAK, W.; DECRISTOFORO, C.; PATT, M. EANM position on the in-house preparation of radiopharmaceuticals. ***European Journal Of Nuclear Medicine And Molecular Imaging***, v. 49, n. 4, p. 1095-1098, 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER - INCA (Brasil). Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2019. 120 p. ISBN 978-85-7318-389-4

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER - INCA (Brasil). A situação do câncer de mama no Brasil: síntese de dados dos sistemas de informação. Rio de Janeiro, 2019. 85 p. ISBN 978-85-7318-377-1.

JACOBSON, O.; KIESEWETTER, D. O; CHEN, X. Fluorine-18 Radiochemistry, Labeling Strategies and Synthetic Routes. ***Bioconjugate Chemistry***, v. 26, n. 1, p. 1-18, 2015.

JONSON, S. D.; BONASERA, T. A.; DEHDASHTI, F.; CRISTEL, M. E.; KATZENELLENBOGEN, J. A.; WELCH, M. J. Comparative breast tumor imaging and comparative in vitro metabolism of 16alpha- [ $^{18}\text{F}$ ]fluoroestradiol-17beta and 16beta-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoromoxestrol in isolated hepatocytes. ***Nuclear Medicine Biology***, v. 26, n. 1, p. 123-130, 1999.

JUHAERI, J. Benefit–risk evaluation: the past, present and future. *Therapeutic Advances in Drug Safety*, v. 10, p 1-10, 2019

KATZENELLENBOGEN, J. A.; MATHIAS, C. J.; VANBROCKLIN, H.F.; WELCH, M. J. Titration of the in vivo uptake of  $16\alpha$ -[F-18]fluoroestradiol by target tissues in the rat: competition by tamoxifen, and implications for quantitating estrogen receptors in vivo and the use of animal models in receptor-binding radiopharmaceutical development. *Nuclear Medicine and Biology*, v. 20, p. 735–745, 1993.

KATZENELLENBOGEN, J. The quest for improving the management of breast cancer by functional imaging: The discovery and development of  $16\alpha$ -[ $^{18}\text{F}$ ]fluoroestradiol (FES), a PET radiotracer for the estrogen receptor, a historical review. *Nuclear Medicine and Biology*, v. 92, p. 24-37, 2021.

KAWAMURA, T. Interpretação de um Teste sob a Visão Epidemiológica. Eficiência de um Teste. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 79, n. 4, 2002

KIESEWETTER, D. O.; KILBOURN, M. R.; LANDVATTER, S. W.; HEIMAN, D. F.; KATZENELLENBOGEN, J. A.; WELCH, M. J. Preparation of four fluorine-18-labeled estrogens and their selective uptakes in target tissues of immature rats. *Journal Of Nuclear Medicine : Official Publication, Society Of Nuclear Medicine*, v. 25, n. 11, p. 121-1221, 1984

KIMMELMAN, J.; HANDERSON, V. C. Assessing Risk/Benefit for Trials Using Preclinical Evidence: A Proposal. *Journal of Medical Ethics*, v. 42, n. 1, p. 50-53, 2017.

KNOTT, K. E.; GRÄTZ, D.; HÜBNER, S.; JÜTTLER, S.; ZANKL, C.; MÜLLER, M. Simplified and automatic one-pot synthesis of  $16\alpha$ -[ $^{18}\text{F}$ ]fluoroestradiol without high-performance liquid chromatography purification. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, v. 54, n. 12, p. 749-753, 2011.

KUMAR, P.; MERCER, J.; DOERKSON, C.; TONKIN, K.; MCEWAN, A. J. B. Clinical production, stability studies and PET imaging with  $16\alpha$ -[ $^{18}\text{F}$ ]fluoroestradiol ([ $^{18}\text{F}$ ]FES) in ER positive breast cancer patients. *Journal of Pharmacy Pharmaceutical Sciences*, v. 10, n. 2, p. 256s-265s, 2007.

KURLAND, B. F.; PETERSON, L. M.; LEE, J. H.; LINDEN, H. M.; SCHUBERT, E. K.; DUNNWALD, L. K.; LINK, J. M.; KROHN, K. A.; MANKOFF, D. A. Between-patient and within-patient (site-to-site) variability in estrogen receptor binding, measured in vivo by  $^{18}\text{F}$ -fluoroestradiol PET. *Journal Of Nuclear Medicine*, v. 52, n. 10, p. 1541-1549, 2011.

KURLAND, B. F.; WIGGINS, J. R.; COCHE, A.; FONTAN, C.; BOUVET, Y.; WEBNER, P.; DIVGI, C.; LINDEN, H. M. Whole-Body Characterization of Estrogen Receptor Status in Metastatic Breast Cancer with  $16\alpha$ - $^{18}\text{F}$ -Fluoro- $17\beta$ -Estradiol Positron Emission Tomography: Meta-Analysis and Recommendations for Integration into Clinical Applications. *The Oncologist*, v. 25, n. 10, p. 835-844, 2020

KWAST, A.; VOOGD, A.; MENKE-PLUIJMERS, M.; LINN, S. C.; SONKE, G. S.; KIEMENEY, L. A.; SIESLING, S. Prognostic factors for survival in metastatic breast cancer by hormone receptor status. **Breast Cancer Research And Treatment**, v. 145, n. 2, p. 503-511, 2014.

LIM, E.; FILHO-METZGER, O.; WINER, E. The natural history of hormone receptor-positive breast cancer. **Oncology**, v. 26, n. 8, p.688-694, 2012.

LIM, E. J.; ZHENG, L.; BERRIDGE, M. S.; TEWSON, T. J. The use of 3-methoxymethyl-16 $\beta$ , 17 $\beta$ -epiestriol-O-cyclic sulfone as the precursor in the synthesis of F-18 16 $\alpha$ -fluoroestradiol. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 23, n. 7, p. 911-915, 1996.

LINDEN, H. M.; STEKHOVA, S. A.; LINK, J. M.; GRALOW, J. R.; LIVINGSTON, R. B.; ELLIS, G. K.; PETRA, P. H.; PETERSON, L. M.; SCHUBERT, E. K.; DUNNWARD, L. K.; KROHN, K. A.; MANKOFF, D. A. Quantitative fluoroestradiol positron emission tomography imaging predicts response to endocrine treatment in breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 24, n. 18, p. 2793-9, 2006.

LINDEN, H. M.; KURLAND, B. F.; PETERSON, L. M.; SCHUBERT, E. K.; GRALOW, J. R.; SPECHT, J. M.; ELLIS, G. K.; LAWTON, T. J.; LIVINGSTON, R. B.; PETRA, P. H.; LINK, J. M.; KROHN, K. A.; MANKOFF, D. A. Fluoroestradiol positron emission tomography reveals differences in pharmacodynamics of aromatase inhibitors, tamoxifen, and fulvestrant in patients with metastatic breast cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 17, n. 14, p. 4799-4805, 2011.

LUMACHI, F.; BRUNELLO, A.; MARUZZO, M.; BASSO, U.; BASSO, S. M. Treatment of estrogen receptor-positive breast cancer. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 5, p. 596–604, 2013.

MANKOFF, D. A.; TEWSON, T. J.; EARY, J. F. Analysis of blood clearance and labeled metabolites for the estrogen receptor tracer [F-18]-16 alpha-fluoroestradiol (FES). **Nuclear Medicine and Biology**, v. 24, n. 4, p. 341–348, 1997.

MANKOFF, D. A.; PETERSON, L. M.; TEWSON, T. J.; LINK, J. M.; GRALOW, J. R.; GRAHAM, M. M.; KROHN, K. A. [18F]fluoroestradiol radiation dosimetry in human PET studies. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 42, n. 4, p. 679-684, 2001.

MATHIAS, C. J.; WELCH, M. J.; KATZENELLENBOGEN, J. A.; BRODACK, J. W.; KILBOURN, M. R.; CARLSON, K. E.; KIESEWETTER, D. O. Characterization of the uptake of 16 alpha-([18F]fluoro)-17 beta-estradiol in DMBA-induced mammary tumors. **International Journal Of Radiation Applications And Instrumentation, Part B.**, v. 14, n. 1, p. 15-25, 1987.

MCGUIRE, A. H.; DEHDASHTI, F.; SIGEL, B. A.; LYSS, A. P.; BRODACK, J. W.; MATHIAS, C. J.; MINTUN, M. A.; KATZENELLENBOGEN, J. A.; WELCH, M. J. Positron tomographic assessment of 16 alpha-[18F] fluoro-17 beta-estradiol uptake in metastatic breast carcinoma. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 32, n. 8, p. 1526+1531, 1991.

MINTUN, M. A.; WELCH, M. J.; SIEGEL, B. A.; MATHIAS, C. J.; BRODACK, J. W.; MCGUIRE, A. H.; KATZENELLENBOGEN, J. A. Breast cancer: PET imaging of estrogen receptors. *Radiology*, v. 169, n. 1, p. 45-48, 1988.

MORI, T.; KASAMATSU, S.; MOSDZIANOWSKI, C.; WELCH, M.J.; YONEKURA, Y.; FUJIBAYASHI, Y.; Automatic synthesis of 16 $\alpha$ -[18F] fluoro-17 $\beta$ -estradiol using a cassette-type (<sup>18</sup>F)fluorodeoxyglucose synthesizer. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 33, n. 2, p. 281-286, 2006.

MORTIMER, J. E.; DEHDASHTI, F.; SIEGEL, B. A.; TRINKAUS, K.; KATZENELLENBOGEN, J. A.; WELCH, M. J. Metabolic flare: indicator of hormone responsiveness in advanced breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, v. 19, n. 11, p. 2797-2803, 2001.

NCCN - National Comprehensive Cancer Network. Breast Cancer (Version 5.2020). [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/breast.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast.pdf). Acesso em 01/02/2022.

OH, J. S.; CHI, D. Y.; MOSDZIANOWSKI, C.; KIL, H. S.; RYU, J. S.; MOON, D. H.; The automatic production of 16 $\alpha$  (18F)fluoroestradiol using a conventional (18F)FDG module with a disposable cassette system. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 65, n. 6, p. 676–681. 2007

PAQUETTE, M.; OUELLET, R.; ARCHAMBAULT, M.; CROTEAU, E.; LECOMTE, R.; BENARD, F. [18F]- fluoroestradiol quantitative PET imaging to differentiate ER+ and ER $\alpha$ -knockdown breast tumors in mice. *Nuclear Medicine and Biology*, v. 39, n. 1, p. 57-64, 2012

PETERSON, L. M.; KURLAND, B. F.; LINK, J. M.; SCHUBERT, E. K.; STEKHOVA, S.; LINDEM, H .M.; MANKOFF, D. A. Factors influencing the uptake of 18F-fluoroestradiol in patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Nuclear Medicine and Biology*, v. 38, n. 7, p. 969-978, 2011.

PETERSON, L. M.; KURLAND, B. F.; SCHUBERT, E. K.; LINK, J. M.; GADI, V. .; SPECHT, J. M.; EARY, J.F.; PORTER, P.; SHANKAR, L. K.; MANKOFF, D. A.; LINDEN, H .M. A phase 2 study of 16 $\alpha$ -[18F]-fluoro-17 $\beta$ -estradiol positron emission tomography (FES-PET) as a marker of hormone sensitivity in metastatic breast cancer (MBC). *Molecular imaging and biology*, v. 16, n. 3, p. 431-40, 2014

RÖMER, J.; STEINBACH, J.; KASCH, H. Studies on the Synthesis of 16 $\alpha$ -[<sup>18</sup>F]fluoroestradiol. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 47, n. 4, p. 395-399, 1996.

RÖMER, J.; FÜCHTNER, F.; STEINBACH, J.; JOHANNSEN, B. Automated Production of the PET Tracer 16  $\alpha$ -[18F] Fluoroestradiol for Breast Cancer Imaging. *Nuclear Medicine and Biology*, v. 26, n. 4, p. 473-479, 1999.

SAHA, G. B. Quality Control of Radiopharmaceuticals. In: Fundamentals of Nuclear Pharmacy. *Springer*, p. 143-167, 1992.

SACKETT, D. L.; STRAUSS, S. E.; RICHARDSON, W. S.; ROSENBERG, W.; HAYNES, R. B. Evidence-based medicine: how to practice and teach EBM, Second Ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2000.

SASAKI, M.; FUKUMURA, T.; KUWABARA, Y.; YOSHIDA, T.; NAKAGAWA, M.; ICHIYA, Y.; MASUDA, K. Biodistribution and breast tumor uptake of 16alpha-[18F]-fluoro-17beta-estradiol in rat. *Annals of Nuclear Medicine*, v. 14, n. 2, p. 127-130, 2000.

SEIMBILLE, Y.; ROUSSEAU, J.; BÉNARD, F.; MORIN, C.; ALI, H.; AVVAKUMOV, G.; HAMMOMD, G. L.; VAN LIER, J. E. 18F-labeled difluoroestradiols: preparation and preclinical evaluation as estrogen receptor-binding radiopharmaceuticals. *Steroids*, v. 67, n. 9, p. 765-75, 2002

SENKUS, E.; KYRIAKIDES, S.; OHNO, S.; PENAULT-LLORCA, F.; POORTMANS, P.; RUTGERS, E.; ZACKRISSON, S.; CARDOSO, F.; ESMO Guidelines Committee. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals Of Oncology : Official Journal Of The European Society For Medical Oncology*, v. 26, 2015. Supplement 5.

SERDONS, K.; VERBRUGGEN, A.; BORMANS, G. The Presence of Ethanol in Radiopharmaceutical Injections. *Journal of Nuclear Medicine*, v. 49, n. 12, p. 2071, 2008.

SHI, J.; AFARI, G.; BHATTACHARYYA, S. Rapid synthesis of [18F]fluoroestradiol: remarkable advantage of microwaving over conventional heating. *Journal Of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals*, v. 57, n.14, p. 730–736, 2014.

SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal For Clinicians*, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

SUN, Y.; YANG, Z.; ZHANG, Y.; XUE, J.; WANG, M.; SHI, W.; ZHU, B.; HU, S.; YAO, Z.; PAN, H.; ZHANG, Y. The preliminary study of 16α-[18F]fluoroestradiol PET/CT in assisting the individualized treatment decisions of breast cancer patients. *PLoS One*, v, 10, n. 1, 2015.

TEWSON, T. J.; MANKOFF, D. A.; PETERSON, L. M.; WOO, I.; PETRA, P. Interactions of 16alpha-[18F]- fluoroestradiol (FES) with sex steroid binding protein (SBP). *Nuclear Medicine and Biology*, v. 26, n. 8, p. 905-913, 1999.

USP, UNITED STATES PHAMACOPEIAL CONVENTION. USP/NF 2018 United States Pharmacopeia / National Formulary. *United States Pharmacopeia*, Rockville, USA, 2018.

USP, UNITED STATES PHAMACOPEIAL CONVENTION. USP/NF 2022 United States Pharmacopeia / National Formulary. General Chapter, <467> Residual Solvents. *United States Pharmacopeia*, Rockville, USA, 2022.

VAN KRUCHTEN, M.; DE VRIES, E.; BROWN, M.; DE VRIES, E.; GLAUDEMANS, A.; DIERCKX, R.; SCHRÖDER, C. P.; HOSPERS, G. PET imaging of oestrogen receptors in patients with breast cancer. **Lancet Oncology**, v. 14, n. 11, p. E465-E475, 2013.

VAN KRUCHTEN, M.; GLAUDEMANS, A. W. J. M.; DE VRIES, E. F. J.; SCHRÖDER, C. P.; DE VRIES, E. G. E.; HOSPERS, G. A. P. Positron emission tomography of tumour [18F]fluoroestradiol uptake in patients with acquired hormone-resistant metastatic breast cancer prior to oestradiol therapy. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 42, n. 11, p. 1674-1681, 2015.

VENEMA, C. M.; APOLLONIO, G.; HOSPERS, G. A.; SCHRÖDER, C. P.; DIERCKX, R. A.; de VRIES, E. F.; GLAUDEMANS, A. Recommendations and Technical Aspects of  $16\alpha$ -[18F]Fluoro- $17\beta$ -Estradiol PET to Image the Estrogen Receptor In Vivo: The Groningen Experience. **Clinical Nuclear Medicine**, v. 41, n. 11, p. 844–851, 2016.

VENEMA, C. M.; MAMMATAS, L. H.; SCHRÖDER, C. P.; VAN KRUCHTEN, M.; APOLLONIO, G.; GLAUDEMANS, A. W. J. M.; BONGAERTS, A. H. H.; HOEKSTRA, O. S.; VERHEUL, H. M. W.; BOVEN, E.; VAN DER VEGT, B.; DE VRIES, E. F. J.; DE VRIES, E. G. E.; BOELLAARD, R.; VAN DER HOUVEN VAN OORDT, C. W. M.; HOSPERS, G. A. P. Androgen and Estrogen Receptor Imaging in Metastatic Breast Cancer Patients as a Surrogate for Tissue Biopsies. **Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine**, v. 58, n. 12, p. 1906-1912, 2017.

VIEIRA, F. P.; REDIGUIERI, C. F.; REDIGUIERI, C. F. A regulação de medicamentos no Brasil. Porto Alegre, 2013. Cap 6, registro e boas práticas de fabricação de radiofármacos. p 97-110

WAKS, A.; WINER, E. Breast Cancer Treatment: A Review. **JAMA**, v. 321, n. 3, p. 288-300, 2019

YERSAL, O.; BARUTCA, S. Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. **World Journal of Clinical Oncology**, v. 5, n. 3, p. 412-424, 2014

YIP, C.; RHODES, A. Estrogen and progesterone receptors in breast cancer. **Future Oncology**, v. 10, n. 14, p. 2293-2301, 2014.

ZUBAIR, M.; WANG, S.; ALI, N. Advanced Approaches to Breast Cancer Classification and Diagnosis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, n. 632079, 2021.

## APÊNDICES

### Apêndice A - Análise de eficácia e segurança do FES-<sup>18</sup>F

#### Resumo e Avaliação de Risco-Benefício

O uso indicado de FES-<sup>18</sup>F para detecção de lesões RE+, na população indicada de pacientes com câncer de mama recorrente ou metastático teve sua eficácia avaliada em estudos publicados com o radiofármaco. Utilizando a imunohistoquímica (IHC) como método de referência para avaliação da expressão do RE na população indicada, as evidências encontradas na literatura demonstram o desempenho significativo de FES-<sup>18</sup>F para detecção de lesões RE+ na população indicada. Com base nos estudos encontrados na literatura, a segurança de FES-<sup>18</sup>F foi avaliada e foram encontradas evidências substanciais de que FES-<sup>18</sup>F é seguro.

Dimensão	Evidências e incertezas	Conclusões e racional
<b>Análise da condição</b>	Mundialmente, o câncer de mama é o câncer mais comumente diagnosticado e a principal causa de morte por câncer na população feminina. A terapia hormonal é recomendada apenas em pacientes com câncer de mama RE+ e, em pacientes com câncer de mama recorrente ou metastático, é conhecida a heterogeneidade na expressão de RE entre as lesões e ao longo do tempo. Os métodos de diagnóstico <i>in vitro</i> disponíveis atualmente para esses pacientes podem exigir biópsia e análise de várias lesões.	Em pacientes com câncer de mama recorrente ou metastático, a avaliação da expressão de ER por meio dos métodos <i>in vitro</i> atualmente disponíveis é prejudicada pela heterogeneidade na expressão de RE na população indicada. Com isso, é justificável o desenvolvimento e incorporação de novas técnicas para detecção de RE no corpo todo do paciente.
<b>Opções de tratamento atuais</b>	No Brasil, estão disponíveis apenas métodos para diagnóstico <i>in vitro</i> da expressão de RE. Estes métodos são indicados como auxiliares no manejo dos pacientes, prognóstico e previsão de resposta à terapia hormonal.	FES- <sup>18</sup> F é um agente de imagem PET disponível para detecção de lesões RE+ na população indicada
<b>Benefícios</b>	<u>Evidências:</u> Nos estudos de Chae et al. (2019), Peterson et al. (2014) e Venema et al. (2017) pacientes da população indicada tiveram resultado FES- <sup>18</sup> F PET comparado com resultado de análise imunohistoquímica de lesão biopsiada.	Nos estudos apresentados para o radiofármaco CERIANNA, as evidências demonstram a importância clínica do FES- <sup>18</sup> F para detectar lesões RE+ em pacientes com câncer de mama recorrente ou metastático. Além disso, não foi reportado nenhum

	<p>Em Chae et al. (2019), dos 47 pacientes com resultado RE+ na IHC, 36 destes tiveram resultado FES-<sup>18</sup>F positivo. 38 pacientes eram RE- conforme IHC, e todos tiveram resultado FES-<sup>18</sup>F negativo.</p> <p>No estudo de Peterson et al. (2014), foi observada concordância entre resultado FES-<sup>18</sup>F PET e IHC em todos os 13 pacientes avaliados (todos os 11 pacientes RE+ por IHC eram FES-<sup>18</sup>F-positivos, e ambos os pacientes RE- eram FES-<sup>18</sup>F negativos)</p> <p>Em Venema et al. (2017), todos os 11 pacientes RE+ por IHC eram FES-<sup>18</sup>F-positivos, e ambos os pacientes RE- eram FES-<sup>18</sup>F negativos.</p> <p>As meta-análises de EVANGELISTA et al. (2013) e KURLAND et al. (2020) indicam que PET com FES-<sup>18</sup>F apresenta alta especificidade e sensibilidade na detecção de lesões RE+, utilizando a IHC como referência diagnóstica.</p> <p><u>Incertezas:</u></p> <p>O local das metástases influenciou a escolha dos pacientes nos estudos. Em todos os estudos citados acima, pacientes com apenas metástases hepáticas passíveis de serem biopsiadas foram excluídos, uma vez que há alta captação fisiológica do traçador no fígado. Os critérios de inclusão e exclusão dos pacientes no que diz respeito ao histórico de terapias e tratamentos concomitantes variou entre os estudos de eficácia citados. Entre os estudos, houve variação entre os valores (ou <i>scores</i>) para determinação da positividade de uma lesão analisada por IHC.</p> <p>A IHC realizada a partir de um único local metastático pode não ser representativa da expressão de RE, considerando a heterogeneidade no paciente.</p>	<p>caso de discordância entre o resultado FES-<sup>18</sup>F PET e a IHC para as lesões positivas para FES-<sup>18</sup>F, mostrando alta sensibilidade da técnica.</p>
<p><b>Riscos e gerenciamento de riscos</b></p>	<p>FES-<sup>18</sup>F tem como alvo apenas o receptor de estrogênio (RE), com maior afinidade ao RE<math>\alpha</math>. Sendo assim, é baixo o risco de captação em outros receptores associados ao</p>	<p>Nos estudos disponíveis na literatura encontram-se evidências substanciais de que FES-<sup>18</sup>F é seguro. Informações contidas no rótulo da embalagem ou bula</p>

	<p>câncer de mama, como o receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) ou o receptor de progesterona (PR).</p> <p>No estudo de Chae et al (2019), 10 de 11 pacientes com imagens falso-negativas tiveram pontuações consideradas altas na análise IHC.</p> <p>A captação de FES-<sup>18</sup>F não é específica para câncer de mama, e a captação fisiológica pode dificultar o diagnóstico.</p> <p>Segundo Mankoff et al. (2001), na maior atividade recomendada de 222 MBq (6 mCi), a dose efetiva resultante é de aproximadamente 4,9 mSv, e a dose efetiva equivalente é de 0,22 mSv/MBq.</p> <p>As reações adversas de disgeusia e dor no local da injeção ocorreram em uma taxa &lt; 1%, conforme avaliação realizada a partir de estudos clínicos com 1207 pacientes com câncer de mama (CERIANNA, 2020).</p> <p>Nenhuma morte ou outros eventos adversos graves foram relatados após a administração de FES-<sup>18</sup>F nos estudos clínicos publicados.</p>	<p>do radiofármaco podem mitigar possíveis riscos de erro diagnóstico ou exposição à radiação ionizante: Considerando as limitações dos estudos disponíveis, devem estar numerados a indicação para uso, limitações de uso, risco de erro diagnóstico e interpretação de resultado falso negativo no FES-<sup>18</sup>F</p> <p>Em relação à exposição à radiação ionizante, o rótulo indica a necessidade da manipulação segura do radiofármaco para proteger os pacientes e os profissionais de saúde da exposição não intencional à radiação.</p>
--	--	---