

Desenvolvimento de um Radiofármaco Para Diagnóstico de Câncer de Mama HER2 Positivo

Pedro Henrique Silva Araujo e Emerson Soares Bernardes
Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares – IPEN

INTRODUÇÃO

O câncer surge a partir de células que apresentam uma proliferação descontrolada e que, portanto, não respondem aos mecanismos de controle comum do ciclo celular, em alguns casos, essas células migram por vasos sanguíneos e linfáticos, causando metástase, sendo esta a principal causa de morte por câncer [1]. O câncer de mama possui subtipos histológicos por diferenciação, proliferação e fenótipo celular. O diagnóstico e a classificação se dão por tipo de tumor, tamanho e grau histológico, sendo divididos em três subtipos de expressão de receptores hormonais positivos: estrógeno, progesterona e receptor dois do fator de crescimento epidérmico humano (HER2), podendo também não apresentar receptores hormonais [2].

O método utilizado para classificação do tumor é a biópsia, contudo, em casos de metástase esse recurso nem sempre pode ser utilizado e por vezes se mostra inconclusivo. Em casos de pacientes com metástase é realizada a administração do radiofármaco fluorodeoxyglucose-¹⁸F (FDG-¹⁸F), porém este possui afinidade por áreas inflamadas e órgãos saudáveis, sendo também incapaz de identificar o subtipo de tumor que o paciente possui [3].

O anticorpo Trastuzumabe é atualmente utilizado para o tratamento de câncer HER2 positivo e, devido a sua alta afinidade pelo receptor, será conjugado ao quelante HYNIC-NHS e radiomarcado com ^{99m}Tc a fim de se observar sua viabilidade para diagnóstico do câncer de mama [4].

OBJETIVO

O objetivo deste presente trabalho é desenvolver um radiofármaco que seja capaz de diagnosticar tumores de mama com receptor HER2 positivo a partir do anticorpo monoclonal Trastuzumabe.

METODOLOGIA

Cultivo celular

As linhagens SKBR-3 e MDA-MB-231 serão cultivadas em meio DMEM e 10% de SFB, mantidas a 37°C com 5% CO₂. Quando as células atingirem a concentração de 80% serão utilizadas para experimentações in vivo e in vitro.

Marcação e controle de qualidade

O anticorpo Trastuzumabe será conjugado com o quelante HYNIC-NHS (Futurechem – Coreia do Sul) para posterior adição do radioisótopo ^{99m}Tc e grupos componentes de sua complexometria. Após a marcação, a pureza radioquímica será determinada por cromatografia ascendente em camada delgada (CCD), cujas fitas serão lidas em um TLC-scanner AR-2000.

Teste de estabilidade

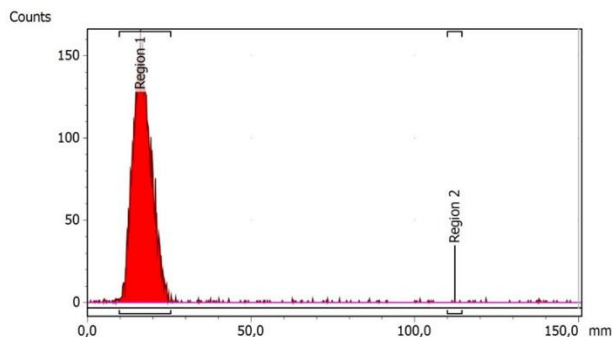
O Trastuzumabe-HYNIC-^{99m}Tc será incubado em solução salina e plasma de camundongo. Nos tempos 0, 15 e 30 minutos, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 24 horas serão feitas fitas de CCD para leitura no contador gama Hidex Automatic. O estudo será realizado em duplicata e os dados serão analisados no software Prisma a fim de determinar a estabilidade do composto.

RESULTADOS

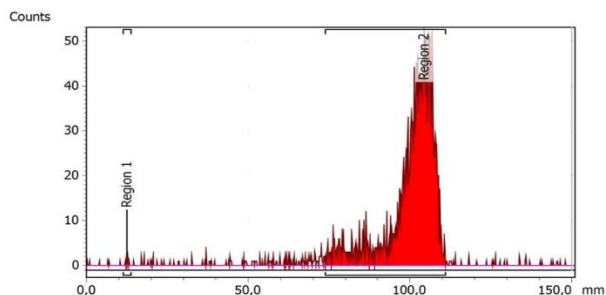
Marcação e controle de qualidade

200ug do anticorpo Trastuzumabe são conjugados ao quelante HYNIC e deixados sob agitação por 1 hora. Em seguida, a amostra é submetida a um filtro Amicon 3KDa para a separação do HYNIC livre. Posteriormente, são adicionados: tricina e ethylenediaminetetraacetato (EDDA) para formação complexométrica do ^{99m}Tc -HYNIC. Aproximadamente 7mCi de ^{99m}Tc é adicionado juntamente do cloreto estanhoso para que a reação seja possível. Por fim, amostras são colhidas para análise em CDD.

Solvente 1: MEK ($^{99m}\text{TcO}_4$ livre migra e Trastuzumabe-HYNIC- ^{99m}Tc fica na origem).



Solvente 2: Salina Trastuzumabe-HYNIC- ^{99m}Tc migra e $^{99m}\text{TcO}_2$ fica na origem).

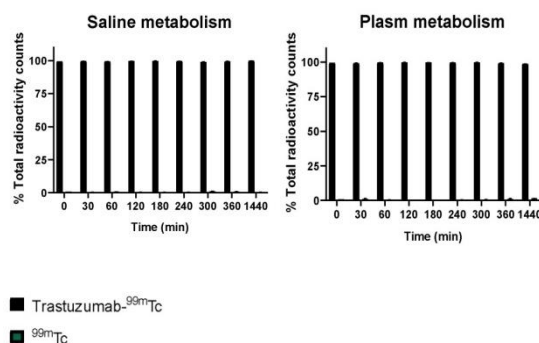


A marcação ocorreu e a pureza se manteve acima de 95%.

Teste de estabilidade

Após medidas as amostras de 24 horas, foi estabelecido um gráfico comprovando a

estabilidade do composto mesmo após longos períodos diluído em salina e plasma.



CONCLUSÕES

O composto Trastuzumabe-HYNIC- ^{99m}Tc é promissor, possuindo características desejáveis a qualquer radiofármaco em desenvolvimento, caso o resultado de experimentos mais complexos demonstrem alta captação, pode alcançar a fase clínica, auxiliando no diagnóstico de câncer de mama HER2 positivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Câncer. 2020. Disponível em: Acesso em: 19 Jan, 2022. ROSA, M. Advances in the Molecular Analysis of Breast Cancer: Pathway toward Personalized Medicine. Sagepub. Abril, 2015.
- [2] Rosa M. Advances in the Molecular Analysis of Breast Cancer: Pathway toward Personalized Medicine. Cancer Control. 2015. doi: 10.1177/107327481502200213
- [3] NADIA, H. Advances in targeting HER2-positive breast cancer. v. 30 i. 1 p. 55-59. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology. Fevereiro, 2018. DOI: 10.1097/GCO.0000000000000431. Disponível em: Advances in targeting HER2-positive breast cancer : Current Opinion in Obstetrics and Gynecology (lww.com). Acesso em: 3 Dez, 2021.
- [4] DEWULF, J; ADHIKARI, K; VANGESTEL, C; WYNGAERT, T, V, D; ELVAS, F. Development of Antibody Immuno-PET/SPECT Radiopharmaceuticals for Imaging of Oncological Disorders—An Update. <https://doi.org/10.3390/cancers12071868>. Disponível em: Development of Antibody Immuno-PET/SPECT Radiopharmaceuticals for Imaging of Oncological Disorders-An Update - PubMed (nih.gov). Acesso em: 19 Abr, 2022.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

O presente trabalho foi possível por conta do suporte da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNEN-IPEN (Comissão Nacional de Energia Nuclear – Instituto de Pesquisa Energética Nuclear) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).