

# **Avaliação da genotoxicidade em caráter pré-clínico da DOTATATO utilizado para produção de radiofármacos no IPEN utilizando metodologia modificada**

**Camila Ayala Lira da Cruz, Ivette Zegarra Ocampo e Daniel Perez Vieira  
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN**

## **INTRODUÇÃO**

O número de casos de câncer tem aumentado de maneira considerável em todo o mundo, principalmente a partir do século passado, configurando-se, na atualidade, como um dos mais importantes problemas de saúde pública mundial. O número estimado para 2014/2015 é de aproximadamente 576 000 casos novos de câncer no Brasil, incluindo os casos de pele não melanoma, apresentadas por taxa bruta de incidência por 100 000 habitantes [1]. Para a realização de tratamentos e diagnósticos da doença são usados os radiofármacos, sendo estas substâncias emissoras de radiação e formadas por compostos bioativos carregadores de isótopos radioativos específicos [2], que detectam os órgãos-alvo, tecidos ou células, tendo também a capacidade de induzir dano citotóxico ou genotóxico significativo nos tecidos que se concentra. Utilizados em quantidades-traço para diagnosticar patologias e disfunções do organismo, e em igual escala na terapia de doenças, particularmente no tratamento de tumores radio sensíveis. Porém antes de serem utilizados passam por estudos pré-clínicos como os testes in vitro e in vivo, para que assim seja determinada a segurança farmacológica deste composto.

## **OBJETIVO**

Por meio da RDC 64 (Dez/2009), a ANVISA determina a necessidade da realização de testes pré-clínicos para atestar a presença ou ausência de toxicidade de um dado radiofármaco anteriormente ao seu registro. Tais testes devem ser realizados em contextos de qualidade experimental,

tomando como parâmetros várias normativas internacionais [3]. Desta forma, o objetivo do trabalho é contribuir com a bateria de testes de genotoxicidade in vitro com ensaios de frequência de micronúcleos, utilizando quantidades estabelecidas de DOTATATO não radiomarcado. O projeto é continuidade e extensão de uma linha de pesquisa do grupo, que avalia o potencial genotóxico e citotóxico de radiofármacos do IPEN segundo os termos do Edital Interno IPEN/2013-2.

## **METODOLOGIA**

Um dos testes de segurança toxicológica é o de frequência de micronúcleos in vitro [4], um sistema eficiente de teste genotoxicidade. A técnica baseia-se na observação de micronúcleos em células de mamífero (CHO-K1) expostas a diversas concentrações do mesmo composto. Os micronúcleos são fragmentos derivados de dano (quebra) do DNA adquirem a forma de micronúcleos, com coloração análoga à dos núcleos principais e com 5 a 30% de seu tamanho [5].

Neste teste são consideradas genotóxicas as concentrações cuja frequência de células binucleadas com micronúcleos ultrapassa em duas vezes a frequência observada nos controles (frequência espontânea).

## **RESULTADOS**

Os experimentos levaram em consideração também a presença da fração S9, mistura complexa derivada de fígado de ratos que simula a degradação hepática. Com ou sem S9, as células expostas a equivalentes a 1/10, 1 ou 10 vezes a concentração máxima administrada em pacientes não mostraram

qualquer grau de genotoxicidade ou aneugênese, com níveis estatisticamente semelhantes ( $p < 0,05$ ) em relação aos controles. (Figura 1)

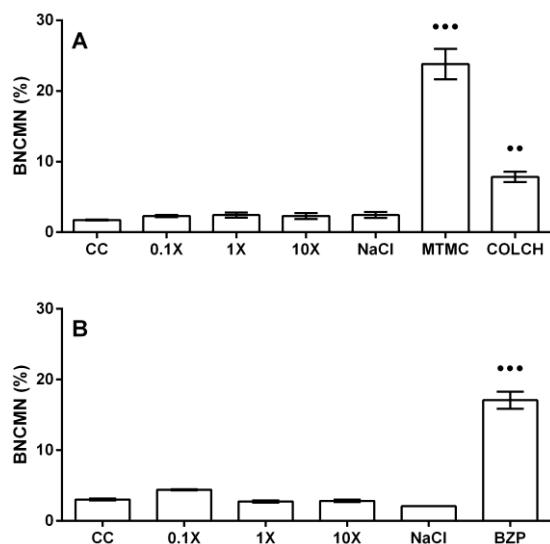


Figura 1: Quantidade de células binucleadas com micronúcleos (1-4) sem (A) ou com (B) ativação metabólica por S9. Não há indução de genotoxicidade das amostras em relação aos controles de célula (CC) e controles negativos (NaCl). Apenas controles positivos (MTMC: mitomicina C; COLCH: colchicina; BZP: benzo[a]pireno) induziram dano estatisticamente significativo. Barras representam médias do erro-padrão. (●●):  $p < 0,01$ ; (●●●):  $p < 0,001$  (relação aos controles CC).

## CONCLUSÕES

DOTATATO foi considerado seguro para utilização diagnóstica e terapêutica, desde que mantido o limite máximo descrito.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[84] Instituto Nacional de Câncer (INCA/PRO-ONCO) - Ministério da Saúde. Estimativa da incidência de câncer no Brasil 2014. Rio de Janeiro, 2014.

[85] de Araújo, E.B.; Lavinhas, T.; Colturato, M.T.; Mengatti, J.; Rev. Bras. Ciências Farm.; 44(1), p.1-12; 2008.

[86] International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (1995) ICH Harmonised Tripartite Guideline. S2A. Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals.

[87] Organisation for Economic Co-operation and Development (2010) OECD Guidelines for the testing of Chemicals – Test 487: In vitro Mammalian Cell Micronucleus Test.

[88] Heddle JA, Fenech M, Hayashi M, MacGregor JT. Mutagenesis. 26(1):3-10, 2011.

## APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

Projeto financiado com recursos orçamentários IPEN – Projeto contemplado com verba do Edital Interno IPEN 2013/2.