

# Validação do uso de um aptâmero de DNA específico para HER2 como radiofármaco para imagem de tumores

Dino Seigo Gushiken Junior e Emerson Soares Bernardes  
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/IPEN

## INTRODUÇÃO

O câncer de mama acomete cerca de 1.7 milhões de mulheres no mundo. Cerca de 25% de todos os cânceres de mama superexpressam um receptor de membrana denominado HER2 que se encontra associado com um fenótipo altamente agressivo, aumento do potencial metastático e reduzida taxa de sobrevida em comparação com outros subtipos de câncer de mama [1]. Dessa forma, através do uso de imagem molecular com radionuclídeos pretendemos melhorar o diagnóstico de tumores positivos para HER2 de forma a prever o nível de progressão da doença e ajudar no planejamento e monitoramento da resposta ao tratamento.

## OBJETIVO

Radiomarcagem de um aptâmero de DNA com  $^{99m}\text{Tc}$ , avaliar a ligação específica do aptâmero radiomarcado em células tumorais que expressam HER2, através de estudos de internalização e retenção celular e estudos de afinidade. Realizar estudos de estabilidade em salina e soro do aptâmero rádio conjugado.

## METODOLOGIA

Inicialmente proceder-se-á à conjugação do aptâmero de DNA com o quelante HYNIC para posterior adição do radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$ , após a conjugação química do aptâmero-HYNIC com  $^{99m}\text{Tc}$  a partir do gerador Molibdênio/Tecnécio ( $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ ) o rendimento e a marcação

do produto serão confirmados por cromatografia líquida de alta eficiência. Em seguida, foram testadas as melhores condições de radiomarcagem do aptâmero-HYNIC com Tecnécio-99. Para isso foram testadas várias concentrações de co-ligantes Tricina e/ou EDDA, cloreto de estanho ( $\text{SnCl}_2$ ) e avaliada a presença de Tecnécio livre após segunda etapa de purificação.

Para avaliação da ligação do HER2 conjugado com  $^{99m}\text{Tc}$  a células tumorais, foram utilizadas células tumorais de mama positivas para HER2 (SKBR3 w BT474), células tumorais de ovário positivas para HER2 (SKOV3) e, células tumorais de mama negativas para HER2 (MDA-MB- 231).

Em seguida, os estudos prosseguiram no sentido de se avaliar a estabilidade do aptâmero radiomarcado em salina e soro à temperatura ambiente e a  $37\text{ }^\circ\text{C}$  respectivamente.

Nesta próxima etapa do projeto foi avaliado se o aptâmero manteve a afinidade por tumores positivos para HER2 quando administrado em camundongos

previamente inoculados com as células tumorais SKOV3 positivas para HER2 e MDA-MB-231. A execução desta etapa do projeto teve a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do IPEN (Nº 202/17) no qual eu estou vinculado ao projeto descrito até o prevê momento

## RESULTADOS

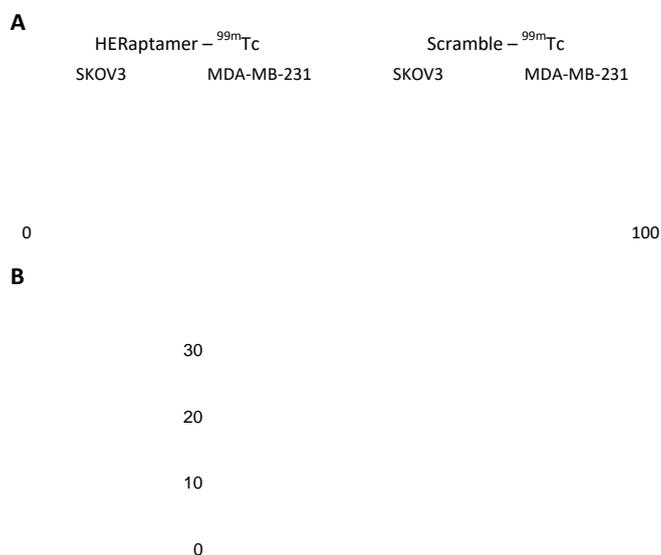


Figura 5. Camundongos nude previamente inoculados subcutaneamente com  $5 \times 10^6$  células SKOV3 ou MDA-MB-231 foram administrados intratumoralmente com 37 MBq/1 mCi de HERtarget radiomarcado com Tecnécio-99m. (A) 2 horas após a injeção os animais foram anestesiados com isoflurano por inalação (concentração inicial 0.5%- anestesia geral 1 a 1.87%), colocados na câmara de escaneamento e analisados no  $\mu$ SPECT/PET/CT (microPET Albira). As setas brancas apontam para o tumor. N=2 por grupo. (B) Após o imageamento, o processamento da imagem foi realizado como software pMOD (PMOD Technologies, Zurich) e a captação de aptâmero radiomarcado foi calculada. Os resultados foram expressos como porcentagem de dose injetada por grama (%DI/g). N=3 por grupo

## CONCLUSÕES

Pelos dados obtidos até ao momento podemos verificar que o aptâmero anti-HER2

selecionado se ligou de forma eficiente a células tumorais positivas para HER2, discriminando-as de células tumorais negativas para o receptor HER2. *In vivo*, os dados apresentados também são promissores uma vez que o aptâmero é estável por até 6 horas em plasma, sendo que o período desde a injeção do radiofármaco no paciente até aquisição da imagem SPECT/CT é de cerca de 1-2 horas. Além disso, o aptâmero radiomarcado ligou no tumor positivo para HER2 por um período de até 2 horas quando injetado intratumoralmente, demonstrando que essa ligação é estável e específica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1]Arteaga CL, Sliwkowski MX, Osborne CK, Perez EA, Puglisi F and Gianni L. Treatment of HER2-positive breast cancer: current status and future perspectives. *Nature reviews Clinical oncology*. 2012.

## APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

O principal suporte financeiro para o desenvolvimento deste novo radiofármaco vem da FAPESP (PIPE Fase 2) e do Centro de Radiofarmácia (CR) do IPEN, no qual eu aluno de Iniciação Científica estou vinculado. O IPEN, além do suporte financeiro, tem contribuído fortemente com o apoio estrutural de laboratórios e equipamentos.