



Voltar

Estudo da biodistribuição e farmacocinética do rituximab-DOTA-¹⁷⁷Lu em camundongos *Swiss*

Lais Fernanda Alcarde e Elaine Bortoleti de Araujo
Instituto de Pesquisa Energética e Nuclear - IPEN

INTRODUÇÃO

O uso de anticorpos monoclonais (AcM) como radiofármacos vem crescendo, em razão de sua extraordinária eficácia e especificidade. O Rituximab (Mabthera® - Roche) é um AcM quimérico específico para o antígeno CD20, uma proteína transmembranar hidrofóbica localizada em linfócitos B maduros. Foi aprovado em 1998 pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para imunoterapia de Linfoma Não-Hodgkin (LNH) de células B. Este AcM liga-se a 95% das células B e 90% das células B de LNH, promovendo morte celular por três mecanismos diferentes: citotoxicidade complemento-dependente, citotoxicidade celular anticorpo-dependente e pela indução da apoptose.

O processo de purificação, utilizado no preparo do AcM para radiomarcagem, por meio de cromatografia de exclusão molecular ou ultrafiltração, é passível de perda proteica ou quebra do anticorpo, sendo assim indicada a determinação da massa proteica, para assegurar efetividade

anticorpo radiomarcado foi injetada via endovenosa caudal nos camundongos. Após diferentes intervalos de tempos os animais foram sacrificados, e seus principais órgãos retirados e pesados. A radioatividade de cada órgão foi avaliada com o auxílio de um contador gama tipo poço.

Os ensaios foram realizados utilizando um cromatógrafo líquido de alta eficiência, e as seguintes condições foram utilizadas: fluxo de 1 mL/minuto, tempo de corrida de 15 minutos, tampão fosfato de sódio 0,2 M pH 7,0 como fase móvel e coluna de exclusão molecular BioSep SEC-S 3000 (300 x 7,8 mm, 5 µm -Phenomenex). A curva de calibração foi obtida com o AcM diluído em tampão fosfato de sódio 0,2 M pH 7,0, através de diluição seriada, obtendo as respectivas concentrações: 400 µg/mL, 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL e 12,5 µg/mL. A partir da curva de calibração calculou-se a equação da reta e com ela a concentração do imunocombinado. Para garantir a validade do método foram realizados estudos de exatidão e precisão.

na radiomarcagem.

OBJETIVO

Estudar a biodistribuição do rituximab-DOTA-¹⁷⁷Lu e desenvolver um método em CLAE para determinação da concentração proteica após o procedimento de conjugação e purificação do imunoconjugado, assim contribuindo para o desenvolvimento deste radiofármaco.

METODOLOGIA

O método invasivo foi empregado nos estudos de biodistribuição. Uma dose do

determinação da concentração do imunoconjugado.

Nos estudos de biodistribuição, a captação renal associada com a alta captação no fígado indica que o radiofármaco sofre acentuado metabolismo hepático. Observou-se concentração significativa da radioatividade nos intestinos, indicando que esta é uma via importante de excreção. A captação no coração e nos pulmões atribuiu-se ao aporte sanguíneo, enquanto que no baço e em outros órgãos do sistema retículoendotelial, ao acúmulo de linfócitos B nestes órgãos. A captação óssea do AcM marcado foi insignificante comparado ao ¹⁷⁷Lu não ligado, considerando que este radionuclídeo é captado ativamente no tecido ósseo. A baixa captação óssea do rituximab-DOTA-¹⁷⁷Lu é um bom indicador da pureza radioquímica e da estabilidade do radiofármaco

CONCLUSÕES

O método estudado para determinação da concentração proteica possibilitou a obtenção do anticorpo radiomarcado com pureza radioquímica superior a 95% em

O ensaio de exatidão consistiu na avaliação de 3 amostras de concentração conhecida, sendo este ensaio realizado com concentrações baixas (50 µg/mL), médias (100 µg/mL) e altas (200 µg/mL). O ensaio de precisão consistiu em 3 avaliações consecutivas de 1 amostra de concentração conhecida, respeitando as condições estabelecidas anteriormente para os demais ensaios.

RESULTADOS

O método cromatográfico foi validado, mostrando-se exato e preciso para a

[4] C.R.B.R. Dias, Estudo Comparativo da Marcação do Anticorpo Anti-CD20 com ¹⁸⁸Re, *Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares* (2010).

[5] G. Barrio, C. R. B. R. Dias, J. A. O. Junior, Dosimetric studies of anti-CD20 labeled with therapeutic radionuclides at IPEN/CNEN-SP. *Scientia Plena*, **8** (2012).

[6] R. A. Weinberg, *A biologia do câncer*, Artmed, Porto Alegre 2008.

[7] "Rituximabe," [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM\[34160-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM[34160-1-0].PDF) (2013).

[8] A. V. F. Massicano, Estudo da Conjugação e Radiomarcagem do Anticorpo Monoclonal Rituximab para Aplicação em Terapia Radionuclídica, *Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares* (2011).

[9] M. Ribani, C. B. G. Bottoli, C. H. Collins, I. C. S. F. Jardim, L. F. C. Melo, Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quim. Nova*, **27** (2004).

pureza radioquímica superior a 99% em todos os estudos. A estabilidade do radiofármaco *in vivo* foi confirmada pela baixa captação nos tecidos ósseos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] R. Oliveira, D. Santos, D. Ferreira, P. M. B. Coelho, F. Veiga, Preparações radiofarmacêuticas e suas aplicações. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, **42**, pp. 151-165 (2006).

[2] G.L. Denardo, V.V. Sysko, S.J. Denardo, Cure of incurable lymphoma. *Journal of Radiation Oncology Biology*, **66**, pp. S46-S56 (2006).

[3] C.R.B.R. Dias, Estudo de Marcação dos Anticorpos Monoclonais IOR-CEA E IOR-EGF/R3 com ^{99m}Tc , *Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares*, (2005).

[10] M. C. Franck, Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica para Caracterização e Quantificação de Derivados Anfetaminicos, *Unicersidade ferderal do Rio Grande do Sul* (2008).

[11] N. M. Kassab, L. G. R. Langue. Desenvolvimento e validação de métodos analíticos por clae para determinação de midazolam em formulações farmacêuticas de uso humano e veterinário. *Departamento de Farmácia-Bioquímica da UFMS* (2009).

[12] RE nº 899 de 29/05/2003 "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos." Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/pdf> (2013).

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

Pibic

[Voltar](#)