



Oncologia e imagem molecular: perspectivas para o futuro

EM UM ELEGANTE ARTIGO DE APENAS UMA PÁGINA PUBLICADA NO *NATURE* EM 1953, WATSON E CRICK DESCREVERAM PELA PRIMEIRA VEZ A ESTRUTURA DO DNA (Watson), abrindo caminho para os avanços que levaram à mais formidável das revoluções nas ciências biológicas, a biologia molecular. Na oncologia, foi a biologia molecular que nos permitiu pela primeira vez entender tumores a partir das alterações genéticas que os definem, desenvolver terapias-alvo e conferir sentido a conceitos como o de medicina personalizada.

Na área de diagnóstico por imagem, o caminho para incorporar os avanços da biologia molecular à prática clínica tem sido mais tortuoso. Isso pode ser atribuído, em grande parte, ao fato de que hoje o diagnóstico por imagem se foca em dados morfológicos, os mesmos dados que ainda norteiam boa parte do raciocínio clínico na medicina.

Com essa ênfase em estrutura, informações de métodos de imagem funcionais são frequentemente interpretadas como equivalentes de dados morfológicos, e os dados sobre biologia molecular implícitos nas imagens passam despercebidos. A incorporação dessas informações pode ter grande relevância na prática clínica, mas implica em mudanças de paradigma. Mudanças profundas como as que ocorrem hoje na oncologia em relação à biologia molecular. Precisamos começar a pensar em termos de imagem molecular.

Imagem molecular e radiofármacos

A imagem molecular, definida como a visualização, caracterização e mensuração de processos biológicos no nível molecular e celular *in vivo*, já é uma realidade, com a ressonância magnética, a imagem óptica e a medicina nuclear fazendo as contri-

buições mais relevantes nesse campo (Weissleder). Entretanto, é a medicina nuclear que está mais bem posicionada para se beneficiar dos avanços dos nossos conhecimentos de biologia molecular no campo da imagem molecular. De fato, o entusiasmo com a interface entre medicina nuclear e imagem molecular é tão grande que, em 2001, o tradicional *European Journal of Nuclear Medicine* mudou de nome para *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Na sequência, várias outras entidades representativas da medicina nuclear também acrescentaram imagem molecular ao seu nome, inclusive a American Society of Nuclear Medicine e a nossa Sociedade Brasileira de Medicina Nuclear.

No centro da interface entre a medicina nuclear e a biologia molecular está o radiofármaco. O radiofármaco é um isótopo radioativo, ligado ou não a uma molécula, que é administrado ao paciente, mais frequentemente, por via intravenosa ou oral. É a administração do radiofármaco ao paciente que define o campo de atuação da medicina nuclear na medicina.

Cada isótopo radioativo possui características próprias enquanto decai em busca de estabilidade nuclear, podendo, por exemplo, emitir fótons de luz (raios Gama) ou pósitrons (antimatéria do elétron), o que nos permite fazer imagens da localização desses isótopos no corpo do paciente com gama câmaras ou aparelhos de tomografia por emissão pósitrons (PET), respectivamente. Isótopos radioativos também podem emitir partículas beta ou alfa, capazes de gerar radicais livres ou dano celular direto, ampliando as aplicações clínicas da medicina nuclear para a terapia.

A câmara gama e os aparelhos de PET conseguem detectar a presença do radiofármaco *in vivo*



Foto: Arquivo pessoal

Sérgio Altino

* Médico responsável pelos serviços de SPECT/CT do Hospital Copa Star e PET/CT do Centro de Imagem Rede D'Or

Contato:

altino.sergio@gmail.com

em concentrações mínimas de 10^{-9} a 10^{-12} mol/Kg. Essa sensibilidade é de ordem de magnitude maior do que a da tomografia computadorizada ou da ressonância magnética (Tabela 1/Schulthess). Dada essa grande sensibilidade, em geral administramos, aproximadamente, 1 μ g do composto cuja biodistribuição queremos estudar por imagem (em contraste, um grão de sal pesa em média 50 μ g), permitindo a realização de um estudo com baixa toxicidade e sem interferir com a fisiologia do processo avaliado.

Tabela 1: Imagem molecular: sensibilidade e resolução espacial de diferentes métodos de imagem (adaptado de Schulthess)

Método	Concentração de contraste (mol/kg)	Resolução espacial
Tomografia computadorizada	10^{-3}	++++
Ressonância magnética	10^{-5}	+++
Gama câmaras	$10^{-9} - 10^{-12}$	++
Tomografia por emissão de pósitrons	$10^{-9} - 10^{-12}$	+

A capacidade de estudar o metabolismo e a biodistribuição de diminutas concentrações de um átomo ou molécula *in vivo* é o elo fundamental entre a medicina nuclear e a biologia molecular. A síntese de novos radiofármacos, desenhados para estudar aspectos diferentes da biologia *in vivo*, tem demonstrado surpreendente flexibilidade e é hoje a principal força motriz dos recentes avanços da medicina nuclear (Tabela 2). À medida que o nosso conhecimento sobre genômica, proteômica e metabolômica avança, crescem os alvos passíveis de estudos por radiofármacos.

Pensando em termos de imagem molecular, tomemos a fluordesoxiglicose marcada com flúor 18 (FDG^[18F]) como exemplo. Não existem dúvidas sobre o impacto do PET com FDG^[18F] na oncologia. No estadiamento de tumores de pulmão, por exemplo, o método é consenso em várias diretrizes (Al-Jahdal). No caso, a ênfase é no equivalente morfológico dos achados do estudo de PET, ou seja, o TNM do tumor: **T**: Qual o tamanho do tumor? O tumor invade estruturas vizinhas? **N**: Existem linfonodos de dimensões aumentadas? Onde estão? **M**: Existem metástases? Em quais órgãos?

O poder do método no estadiamento de tumores está na capacidade de identificar a captação do radiofármaco, indicando alta suspeição de acometimento tumoral, mesmo em pequenos volumes teciduais ou em lesões sem alterações morfológicas indicativas de acometimento secundário. Mas o fato é que o estudo de PET com FDG^[18F] é essencialmente uma avaliação do metabolismo glicolítico. Para a nossa discussão, a questão essencial é: as alterações do metabolismo glicolítico, ou seja, os dados funcionais do exame, possuem relevância além do equivalente morfológico do TNM?

Tabela 2: Radiofármacos mencionados no texto e o processo biológico avaliado por eles

Radiofármaco	Processo biológico avaliado
FDG ^[18F]	Metabolismo glicolítico
FES ^[18F]	Expressão de receptores de estrogênio
DOTATOC- ⁶⁸ Ga	Expressão de receptores de somatostatina
Erlotinib ^[11C]	Expressão de EGFR
Anticorpo NOTA-PD-1- ⁶⁴ Cu Anticorpo NOTA-PD-L1- ⁶⁴ Cu Anticorpo DOTA-anti-CTLA-4 - ⁶⁴ Cu	Expressão de <i>checkpoints</i> imunológicos

Já em 1927, Warburg postulou a hipótese de que frequentemente células cancerígenas metabolizam glicose a uma taxa muito superior a células normais (Warburg). Esse metabolismo também é realizado por glicólise, em substituição da mais eficiente fosforilação oxidativa. Para atender às suas exacerbadas demandas metabólicas, os tumores expressam maiores quantidades de Glut, transportadores de membrana específicos para glicose, e da enzima hexocinase (Ong). Na essência, em termos de biologia molecular, o estudo de PET com FDG^[18F] é uma ferramenta para estudo *in vivo* dessas alterações genéticas, características de vários tumores.

No adenocarcinoma de pulmão, sabemos que as alterações moleculares associadas a um aumento do metabolismo glicolítico também estão associadas a indiferenciação celular e outros marcadores de agressividade, como o aumento do Ki-67 (Vesselle). Existe um robusto corpo de evidências indicando que maiores taxas de metabolismo glicolítico, como caracterizado pelo estudo de PET com FDG^[18F], são um fator prognóstico independente em pacientes com câncer de pulmão (Berghmans). Hoje, apesar do uso rotineiro do método no estadiamento do câncer de pulmão, essa importante informação prognóstica é largamente ignorada. O desafio é desenvolver estratégias para incorporar essa evidência à prática clínica, e assim fazendo abraçar o potencial da imagem molecular.

Imagem molecular alterando a conduta clínica: hepatocarcinoma

O uso de PET com FDG^[18F] na avaliação de pacientes com hepatocarcinomas candidatos a transplante hepático é um exemplo promissor do uso de dados funcionais na definição de condutas. Paradoxalmente, a baixa sensibilidade do método no diagnóstico desses tumores, que é de aproximadamente 50%, é notória. Em outras palavras, realizar um estudo de FDG^[18F] para avaliar uma lesão hepática suspeita é equivalente a lançar a sorte no cara ou coroa.

Então, por que utilizar o método na seleção de candidatos com hepatocarcinoma para transplante? Porque, assim como em outros tumores, a captação de FDG^[18F] está associada a indiferenciação do tumor e pior prognóstico (Lam). O raciocínio é que essa informação possa ser útil na seleção de pacientes para transplante (Yang).

Por exemplo, em um estudo na Alemanha, a sobrevida livre de doença em cinco anos para pacientes com hepatocarcinoma transplantados dentro dos critérios de Milão (86,2%) foi semelhante à de pacientes com tumores fora do critério de Milão e sem captação de FDG^[18F] (81%), em contraste com o resultado em pacientes com tumores ávidos pelo radiofármaco (21%, P = 0,002). Em uma análise multivariada, captação de FDG^[18F] (OR = 21,6 P < 0,001), alfafetoproteína < 400 IU/mL (OR = 3,3, P = 0,013) e diâmetro total do tumor < 10 cm (OR = 3,0 P = 0,022) foram identificados como os fatores pré-transplante prognósticos para sobrevida livre de doença (Kornberg). Em outras palavras, é possível desenvolver estratégias para flexibilizar a seleção de pacientes com hepatocarcinomas candidatos a transplante hepático com a incorporação dos dados de biologia molecular obtidos no estudo de PET.

A avaliação da expressão genética e heterogeneidade tumoral *in vivo*: tumores de mama e tumores neuroendócrinos

O câncer é por natureza uma doença policlonal. No mesmo paciente é possível que clones diferentes existam simultaneamente, explicando em parte os casos em que lesões diferentes respondem de forma diferente à terapia sistêmica. Portanto, a biópsia de uma lesão pode não ser representativa de todas as lesões do paciente. A imagem molecular nos fornece uma forma de avaliação da heterogeneidade da biologia tumoral *in vivo*.

Por exemplo, a expressão de receptores de estrogênio no câncer de mama tem valor prognóstico e na escolha terapêutica. Essa informação é usualmente obtida por meio de biópsia. Trabalhos apontam que existe heterogeneidade na expressão desses receptores no mesmo paciente, com lesões metastáticas sem expressão do receptor em pacientes com lesões primárias receptor positivas.

PET com estradiol marcado com flúor-18 (FES^[18F]) é uma forma de avaliar a expressão de receptores de estrogênio e prever a resposta à terapia endócrina. (LIAO). Em um estudo, 28,1% dos pacientes apresentaram simultaneamente metástases que captavam e outras que não captavam FES^[18F] (YANG), o que demonstra a capacidade da imagem molecular de caracterizar *in vivo* a heterogeneidade da expressão de receptores de estrogênio em tumores de mama, uma informação que não poderia ser obtida através da biópsia de apenas uma lesão.

Tumores neuroendócrinos frequentemente expressam uma alta densidade de receptores da somatostatina na membrana celular. PET-CT com análogos da somatostatina marcado com gálio-68, como o DOTATOC-⁶⁸Ga, explora essa característica para localizá-los e é hoje um método de primeira linha na avaliação desses tumores, para diagnóstico, estadiamento e decisão terapêutica. Entretanto, à medida que

os tumores neuroendócrinos ficam mais indiferenciados, eles perdem a afinidade por análogos da somatostatina e passam a captar mais FDG^[18F]. Assim como em outros tumores, o aumento do metabolismo glicolítico está associado a tumores mais indiferenciados e a pior prognóstico (Binderbup).

Com alguma frequência, ambos os clones celulares podem conviver no mesmo paciente. Estudos sequenciais com análogos da somatostatina marcado com gálio-68 e com FDG^[18F] demonstram essa heterogeneidade de expressão genética *in vivo* (KAYANI) (Figura 1). A avaliação sequencial de pacientes com tumores neuroendócrinos com PET com análogos da somatostatina marcado com gálio-68 e com FDG^[18F] pode ter valor prognóstico e na definição da conduta clínica (Chan).

A imagem molecular acompanhando os avanços da oncologia, terapia-alvo e imunoterapia

É surpreendente o rápido e constante avanço na oncologia. Esses avanços são baseados em uma crescente compreensão da biologia molecular dos tumores e da elucidação dos mecanismos de interação dos tumores com o organismo, e as terapias são desenhadas para interferir de forma específica com alvos moleculares. À medida que esses alvos são identificados e caracterizados, cresce o número de potenciais novos radiofármacos.

Essa sinergia é caracterizada pela prolífica criação de radiofármacos através da marcação de compostos terapêuticos com isótopos radioativos (Bahce). Esses radiofármacos nos permitem estudar *in vivo* a biodistribuição e o metabolismo de um agente terapêutico, potencialmente prevenindo a eficácia terapêutica antes mesmo do início da terapia. Uma elegante alternativa à prática atual de avaliar a resposta terapêutica após o tratamento.

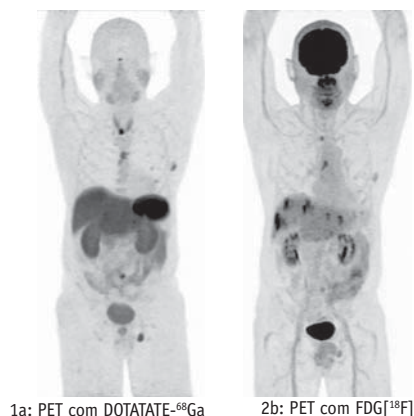


Figura 1: PET com DOTATATE-⁶⁸Ga e FDG^[18F] de um mesmo paciente com tumor neuroendócrino demonstrando heterogeneidade genética das metástases do tumor. Observe lesões hepáticas com captação de FDG^[18F] (aumento do metabolismo glicolítico) e sem captação significativa de DOTATATE-⁶⁸Ga (baixa expressão de receptores de somatostatina) e lesões linfonodais no abdome e inguinal do lado esquerdo com maior captação relativa de DOTATATE-⁶⁸Ga. Imagens cedidas pelo Dr Marcus Grigolon - Clínica Villas Boas - Brasília

Por exemplo, a marcação de erlotinibe com carbono-11 nos permite identificar o grau de afinidade de lesões metastáticas pelo erlotinibe, identificando inclusive a presença de lesões sem captação do radiofármaco e potencialmente resistente à terapia em meio a lesões com afinidade pela droga (Memon) (Figura 2).

A imunoterapia gera hoje um justificável entusiasmo na oncologia. Entretanto, a avaliação da resposta terapêutica nessa nova modalidade de tratamento é um desafio, não sendo raro a resposta tardia ou até a pseudoprogressão do tumor por critérios usuais de avaliação por imagem (Kwak). Uma alternativa é a caracterização *in vivo* dos checkpoints imunológicos fazendo uso de anticorpos ou fragmentos de anticorpos com afinidade pelos receptores PD-1, PD-L1 e CTLA-4 marcados com isótopos radioativos, hoje foco de intensa pesquisa translacional. A possibilidade de se caracterizar *in vivo* a presença da expressão dos receptores associados à inibição da resposta imune do organismo talvez seja uma forma efetiva de escolher com maior acurácia os pacientes que vão responder a essa promissora terapia.

Imagem molecular e a medicina de precisão

Os avanços na oncologia se traduzem em renovada esperança para pacientes com tumores malignos. Ao mesmo tempo, o maior leque de opções terapêuticas aumenta a necessidade de escolher corretamente a terapia adequada para cada paciente. A imagem molecular, com a

sua capacidade de caracterizar a biologia dos tumores *in vivo*, identificando lesões mais agressivas, alvos terapêuticos e heterogeneidade da expressão genética, é uma ferramenta importante na era da medicina de precisão.

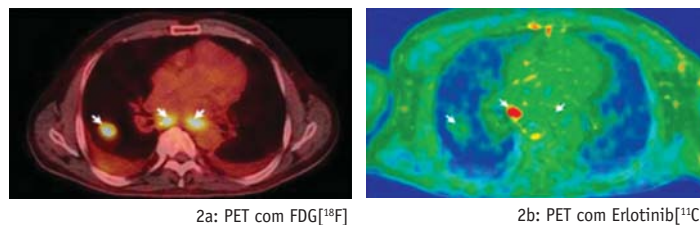


Figura 2: PET com FDG^[18F] e Erlotinibe^[11C] de um mesmo paciente com adenocarcinoma de pulmão. Observe linfonodos intracarinais e lesão no pulmão direito com captação de FDG^[18F] (aumento do metabolismo glicolítico). Apenas um linfonodo intracarinal apresenta captação significativa de Erlotinibe^[11C] (expressão de EGFR). Adaptado de Memon

A medicina nuclear, com a sua comprovada flexibilidade em marcar novas moléculas com isótopos radioativos, promete acompanhar a evolução da nossa compreensão da biologia molecular e da oncologia e ter um papel central nesse novo paradigma em diagnóstico por imagem. ❖❖

Referências bibliográficas:

Al-Jahdali et al. "Guidelines for the Role of FDG-PET/CT in Lung Cancer Management." *Journal of Infection and Public Health* 5 (2012). Bahce et al. "Personalizing NSCLC Therapy by Characterizing Tumors Using TKI-PET and Immuno-PET." *Lung Cancer* (2016). Berghmans et al. "Primary SUVmax Measured on FDG-PET Is of Prognostic Value for Survival in NSCLC: A Systematic Review and Meta-Analysis (MA) by the European Lung Cancer Working Party for the IASLC Lung Cancer Staging Project." *Journal of Thoracic Oncology* 3.1 (2008): 6-12. Binderup et al. "FDG-PET Predicts Survival of Patients with Neuroendocrine Tumors." *Clinical Cancer Research* 16.3 (2010): 978-85. Chan et al. "Dual Somatostatin Receptor/FDG PET/CT Imaging in Metastatic Neuroendocrine Tumours: Proposal for a Novel Grading Scheme with Prognostic Significance." *Theranostics* 7.5 (2017): 1149-158. Cheung et al. "11C-Acetate and ¹⁸F-FDG PET/CT for Clinical Staging and Selection of Patients with Hepatocellular Carcinoma for Liver Transplantation on the Basis of Milan Criteria: Surgeon's Perspective." *Journal of Nuclear Medicine* 54.2 (2013): 192-200. Ehlerding et al. "Molecular Imaging of Immunotherapy Targets in Cancer." *Journal of Nuclear Medicine* 57.10 (2016): 1487-492. Kayani et al. "Functional Imaging of Neuroendocrine Tumors with Combined PET/CT Using ⁶⁸Ga-DOTATATE and ¹⁸F-FDG." *Cancer* 112.11 (2008): 2447-455. Kornberg et al. "Patients with Non-FDG-avid Advanced Hepatocellular Carcinoma on Clinical Staging May Achieve Long-term Recurrence-free Survival after Liver Transplantation." *Liver Transplantation* 18.1 (2011): 53-61. Kwak et al. "Cancer Immunotherapy: Imaging Assessment of Novel Treatment Response Patterns and Immune-related Adverse Events." *RadioGraphics* 35.2 (2015): 424-37. Lam et al. "Underestimated Role of ¹⁸F-FDG PET for HCC Evaluation and Promise of ¹⁸F-FDG PET/MR Imaging in This Setting." *Journal of Nuclear Medicine* 54.8 (2013): 1510-511. Liao et al. "¹⁸F-Fluoroestradiol PET: Current Status and Potential Future Clinical Applications." *Journal of Nuclear Medicine* 57.8 (2016): 1269-275. Memon et al. "PET Imaging of Patients with Non-small Cell Lung Cancer Employing an EGF Receptor Targeting Drug as Tracer." *British Journal of Cancer* 105.12 (2011): 1850-855. Ong et al. "2-[¹⁸F]-2-Deoxy-D-Glucose (FDG) Uptake in Human Tumor Cells Is Related to the expression of GLUT-1 and Hexokinase II." *Acta Radiologica* 49.10 (2008): 1145-153. Schulthess et al. *Molecular Anatomic Imaging PET-CT and SPECT-CT Integrated Modality Imaging*. London: Lippincott Williams & Wilkin, 2007. Vesselle et al. "Relationship Between Non-small Cell Lung Cancer FDG Uptake at PET, Tumor Histology, and Ki-67 Proliferation Index." *Journal of Thoracic Oncology* 3.9 (2008): 971-78. Warburg et al. "The Metabolism Of Tumors In The Body." *The Journal of General Physiology* 8.6 (1927): 519-30. Watson et al. "Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid." *Nature* 171.4356 (1953): 737-38. Weissleder et al. "Molecular Imaging." *Radiology* 219.2 (2001): 316-33. Yang et al. "The Role Of ¹⁸F-FDG-PET Imaging for the Selection of Liver Transplantation Candidates among Hepatocellular Carcinoma Patients." *Liver Transplantation* 12.11 (2006): 1655-660. Yang et al. "Can Fluorine-18 Fluoroestradiol Positron Emission Tomography-Computed Tomography Demonstrate the Heterogeneity of Breast Cancer *In Vivo*?" *Clinical Breast Cancer* 13.5 (2013): 359-63.