

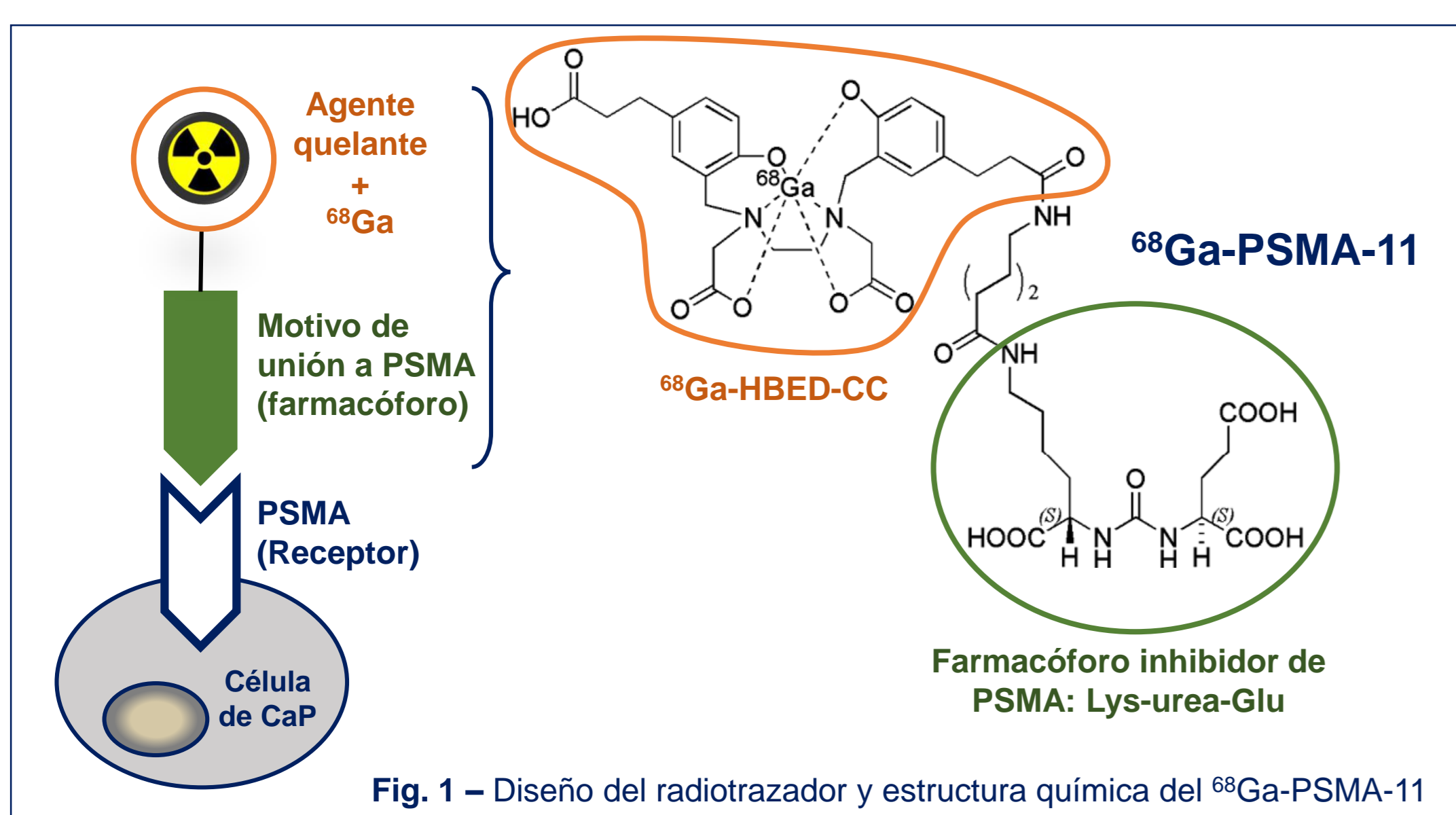
Inhibidores de PSMA radiomarcados con ⁶⁸Ga en el diagnóstico de cáncer de próstata

Natalí Bentancor, Victoria Trindade, Elena Vasilskis, Henia Balter, Henry Engler
natali.bentancor@ cudim.org

Introducción

El cáncer de próstata (CaP) es una enfermedad de incidencia creciente en Uruguay. Su evaluación imagenológica es altamente desafiante y debe ajustarse a la biología tumoral y al estadio evolutivo de los pacientes. En tal sentido, el diagnóstico mediante Tomografía de Emisión de Positrones (PET) resulta de gran utilidad.

El Antígeno Prostático Específico de Membrana (PSMA), es una metaloenzima con marcada sobre-expresión en carcinomas de próstata pobremente diferenciados, metastásicos y hormono-refractarios, en tanto que su expresión fisiológica en tejidos normales es escasa. Es así que se considera un blanco específico promisorio para el diagnóstico imagenológico y para la terapia del CaP. Los inhibidores de PSMA, derivados de urea (farmacóforo: Lys-NH-CO-NH-Glu), se unen en forma específica a PSMA. Su acoplamiento a un agente quelante acíclico (HBED-CC) y su posterior marcado con ⁶⁸Ga (emisor de positrones, T_{1/2}=68 minutos), permiten obtener un radiofármaco PET para diagnóstico de CaP: [⁶⁸Ga-HBED-CC]-(Ahx)-Lys-NH-CO-NH-Glu (⁶⁸Ga-PSMA-11).



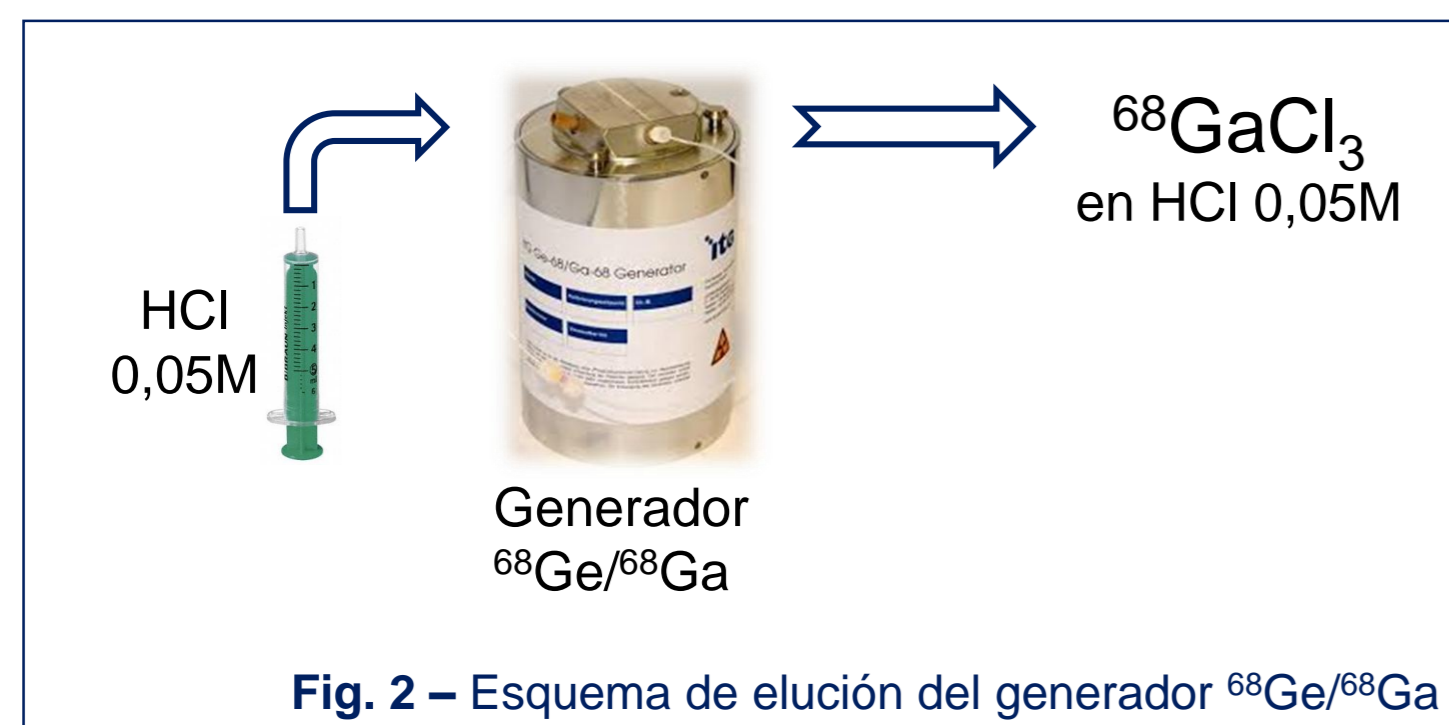
Objetivos

Desarrollar y caracterizar el radiotrazador ⁶⁸Ga-PSMA para el diagnóstico de CaP. Asimismo evaluar sus propiedades fisicoquímicas y su estabilidad, así como su bioafinidad al receptor, mediante ensayos *in vitro* con líneas celulares de CaP y ensayos *in vivo* en un modelo animal.

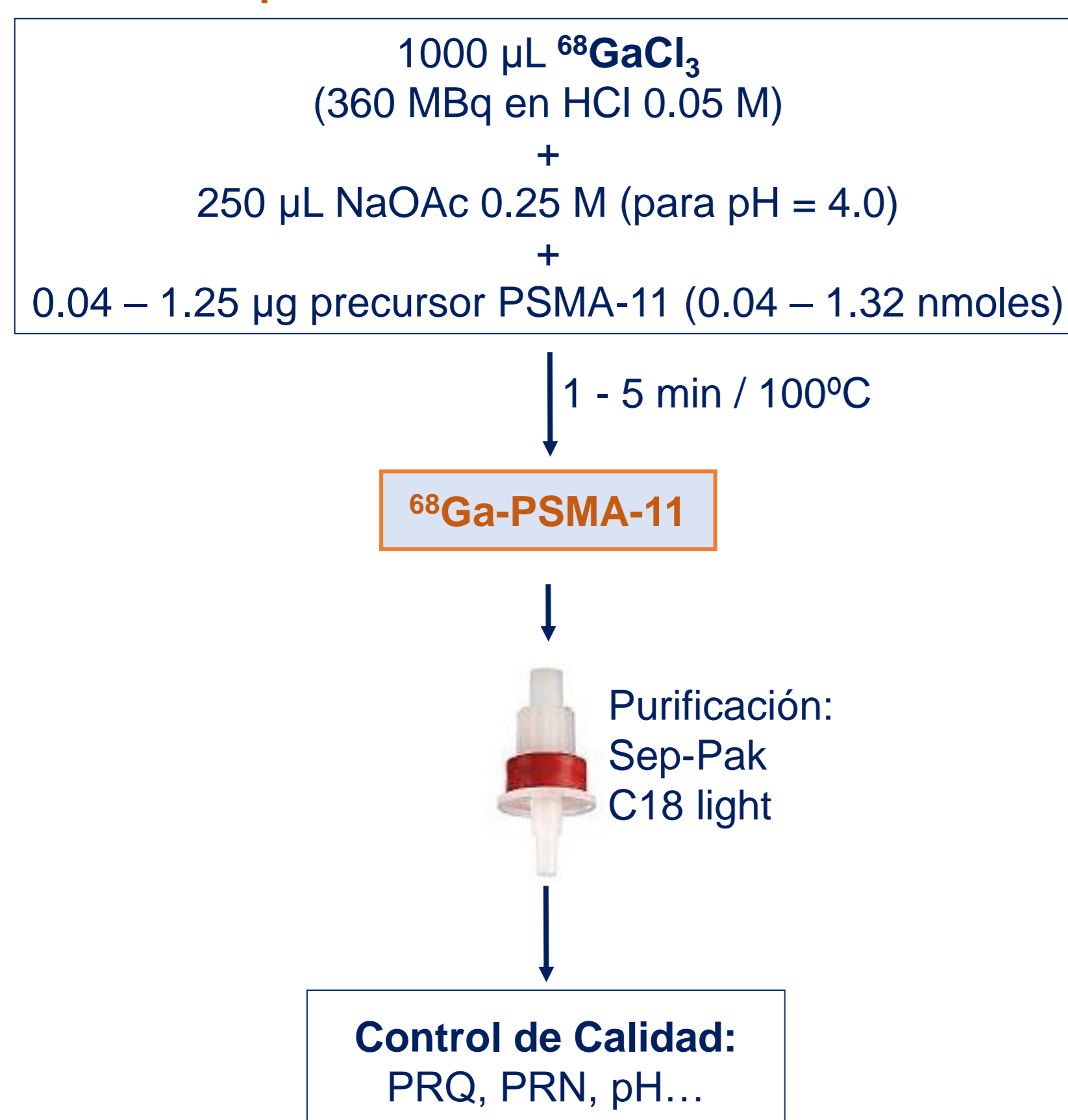
Optimización de la síntesis del radiotrazador

Para la marcación se utilizó el precursor comercial HBED-CC-(Ahx)-Lys-NH-CO-NH-Glu (DKFZ-PSMA-11, ABX), mientras que el ⁶⁸Ga se obtuvo de un sistema generador ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga (ITG) bajo la forma química de ⁶⁸GaCl₃. Se optimizaron las condiciones de marcación para utilizar 360MBq de ⁶⁸Ga en 1000µL de HCl 0.05M, variando la cantidad de precursor (0.04-1.32 nmoles), la temperatura (Tamb. y 100°C) y el tiempo de incubación (1-5 minutos). El pH=4 se ajustó con 250µL NaOAc 0.25M. La pureza radioquímica (PRQ) se determinó mediante HPLC-RP e ITLC-SG en MeOH:NH₄OAc 1M (1:1).

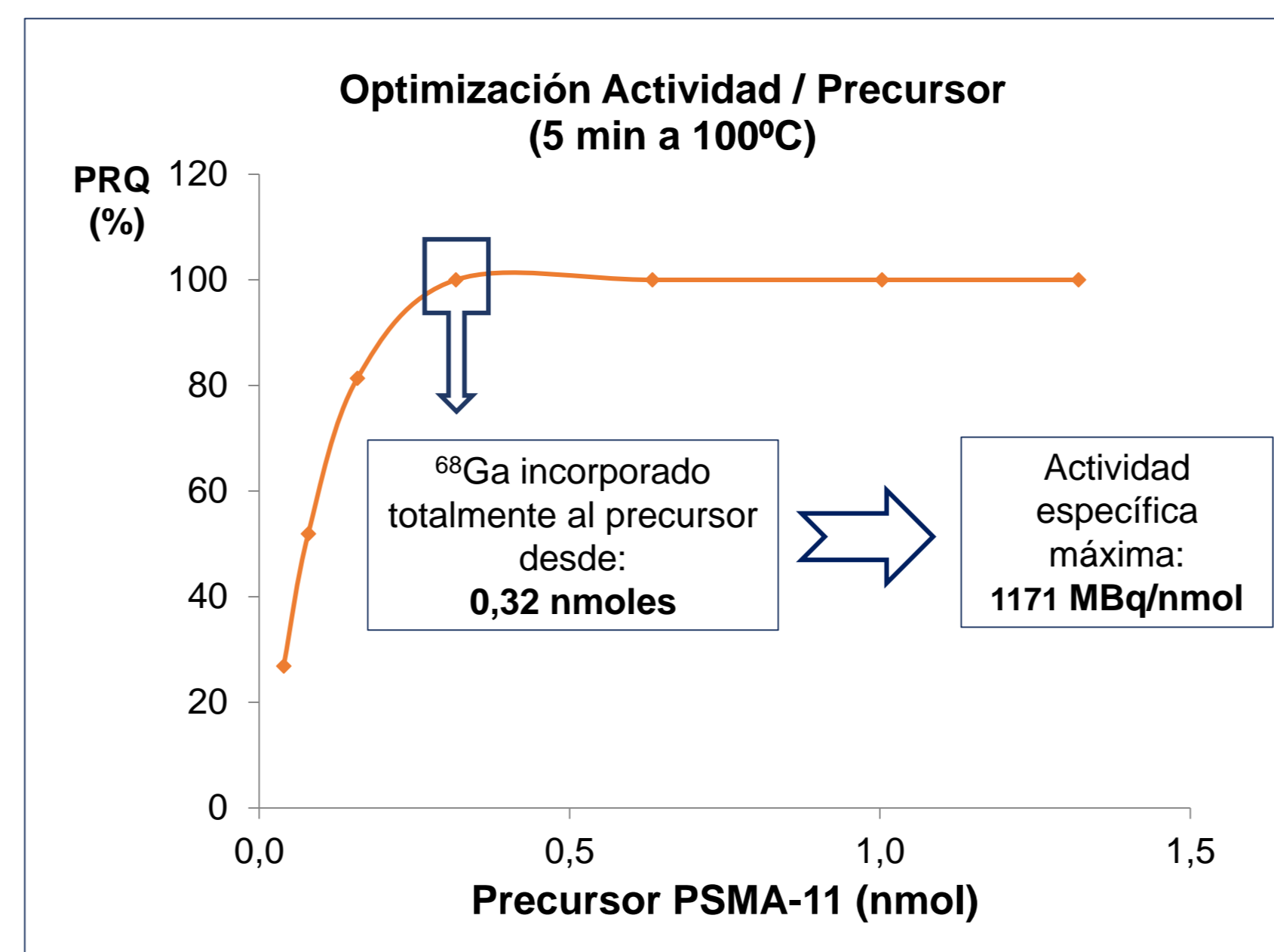
Elución del generador: obtención de ⁶⁸Ga



Esquema de síntesis de ⁶⁸Ga-PSMA-11



Condiciones óptimas de síntesis



Diasterómeros

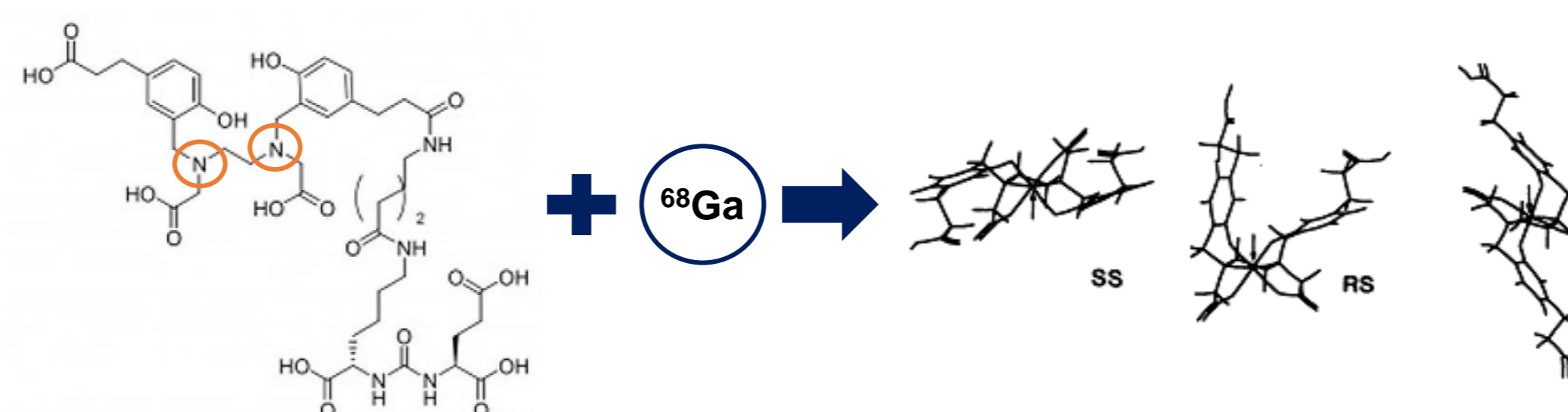
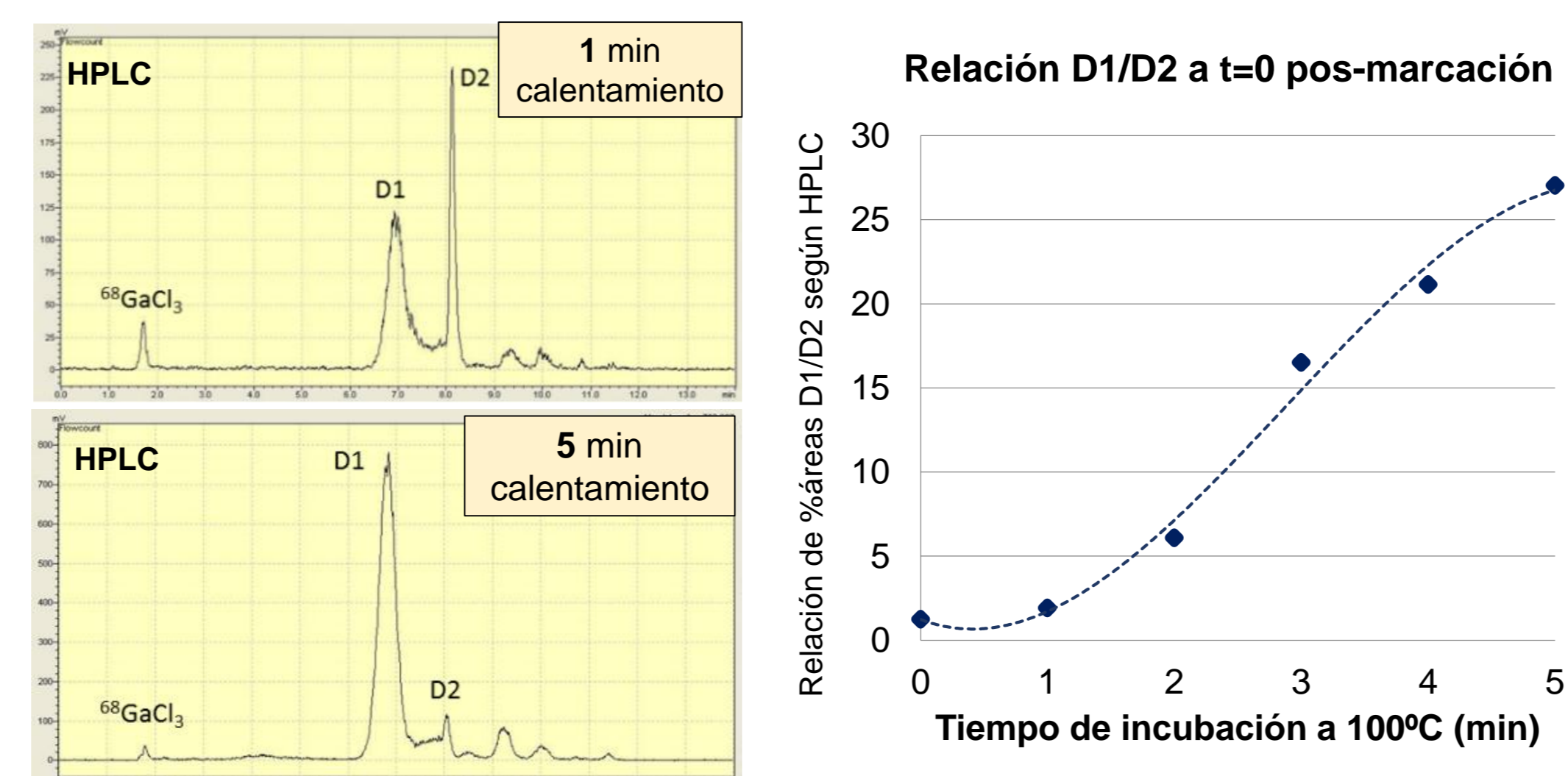
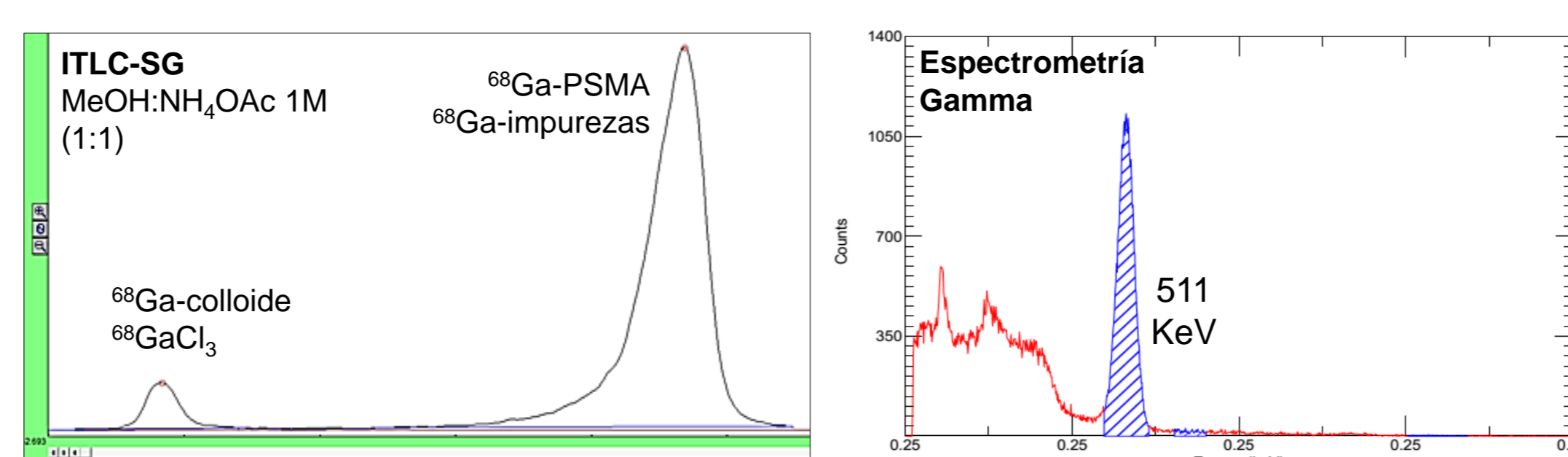


Fig. 3 - Al incorporarse el ⁶⁸Ga a la molécula precursora, se produce el frenado de la libre rotación de los grupos metileno adyacentes a los átomos de nitrógeno del quelante HBED-CC, por lo cual cada par de H metilénicos se convierte en no equivalente (distinguidos por ¹H-NMR). En consecuencia, se pueden formar tres diasterómeros distintos, con las siguientes configuraciones de dichos nitrógenos: SS, RS y RR. (Schuhmacher, J. et al. *Can. Res.* 55, 115-123,1995)



Diasterómero más favorecido predomina en las marcaciones con mayor tiempo de calentamiento

Control de Calidad



Especificaciones:

- PRQ > 90%
- PRN > 99,5 % de emisión gamma a 511 keV y/o 1077keV
- Determinación de ⁶⁸Ge < 0,001% (medido después de 48 h)
- Apariencia: solución incolora, transparente y libre de partículas visibles
- pH: 4,0 – 8,0
- Determinación de solventes: Etanol < 10 %
- Identidad (T_{1/2}): 62 – 74 min
- Determinación pirógenos < 25EU/mL (< 175EU/Vol. Inyección)



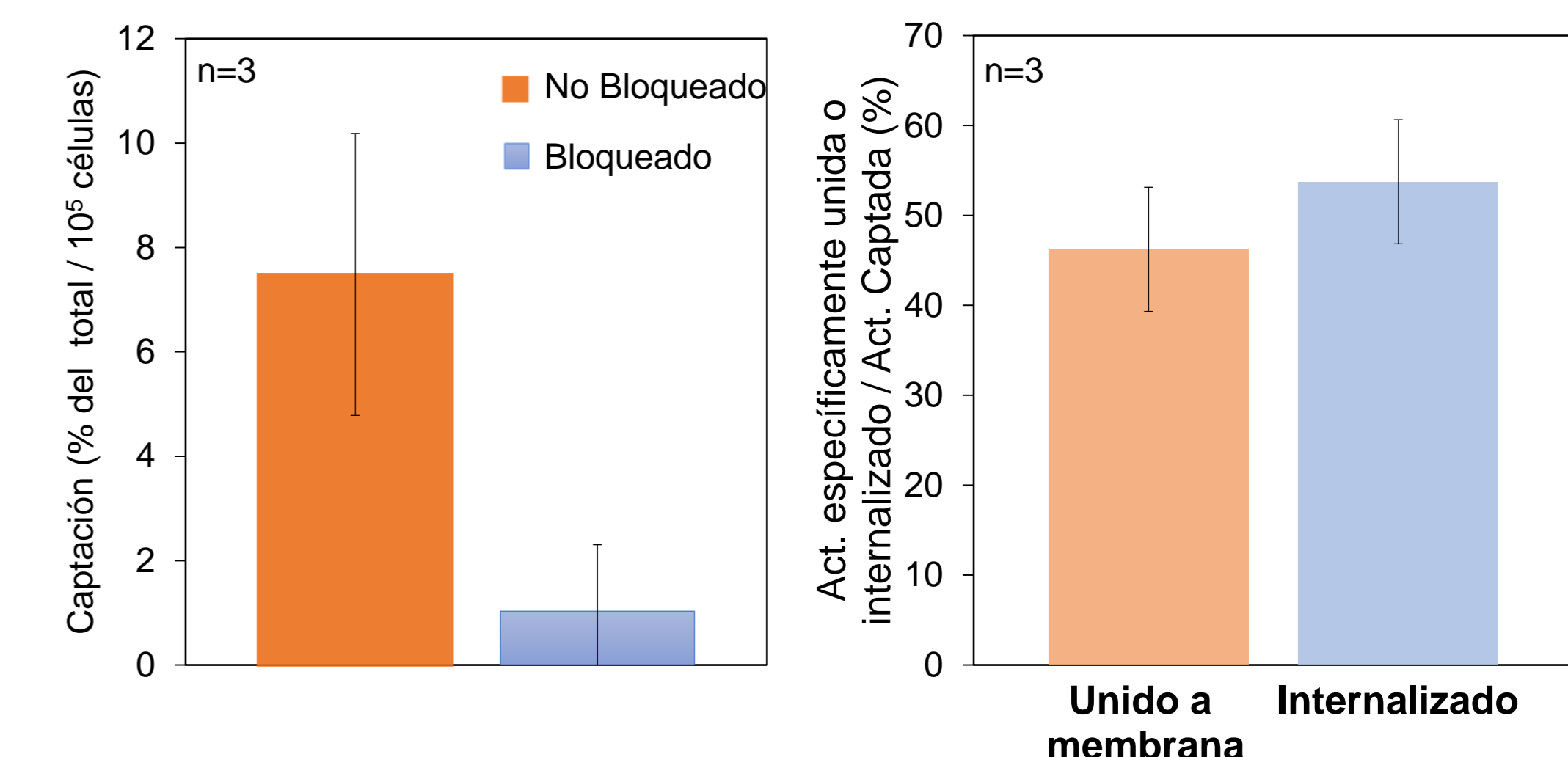
Ensayos *in vitro*

Los ensayos *in vitro* de unión e internalización celular, se realizaron con células tumorales humanas de CaP:

LNCaP (positivas para PSMA) **PC3** (negativas para PSMA)

Captación celular específica = 6,5±2.3% (porcentaje de la actividad específicamente unida respecto a la actividad total añadida inicialmente a 10⁵ células, para 1 hora de incubación a 37°C)

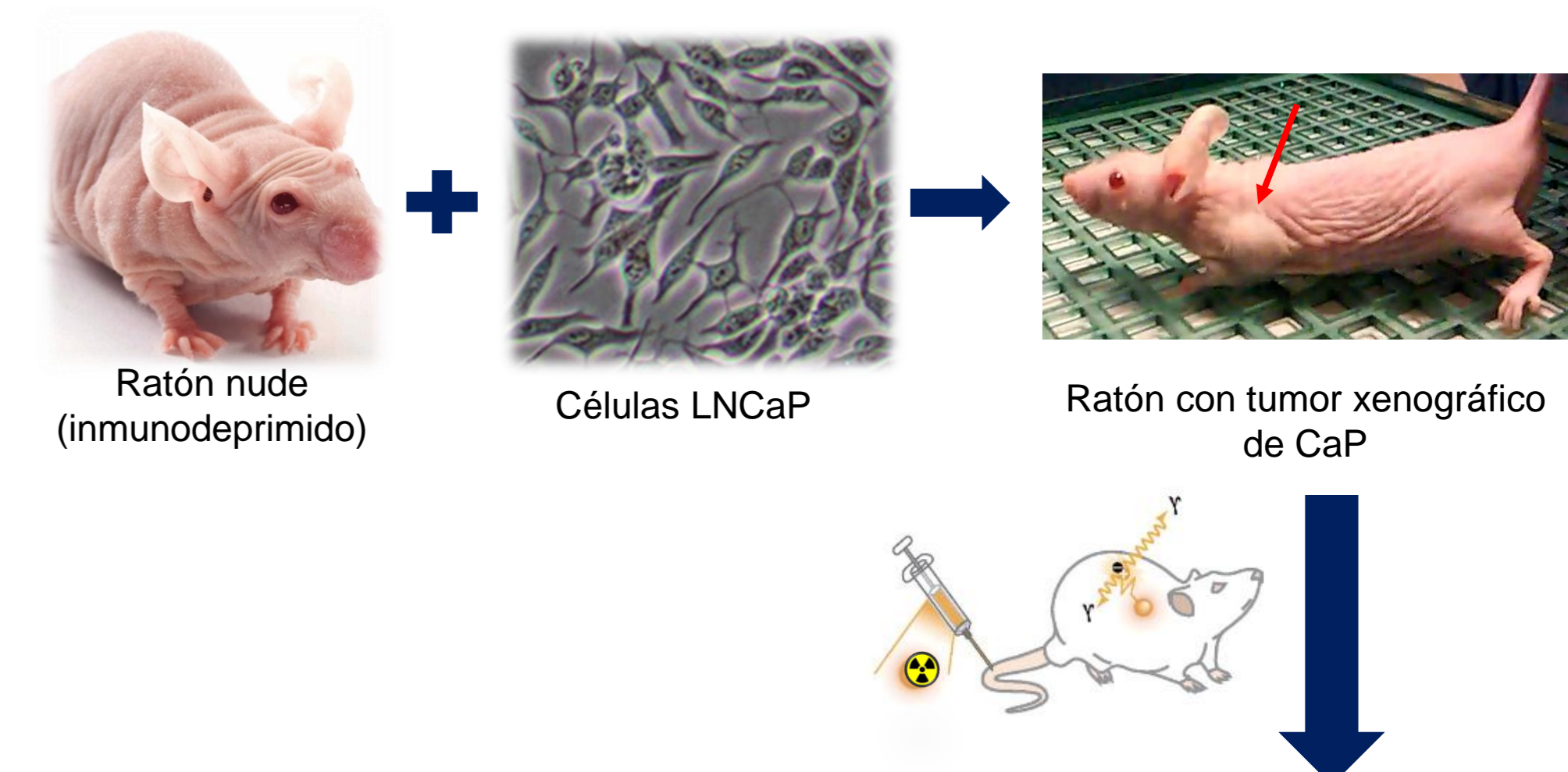
No hubo captación celular específica



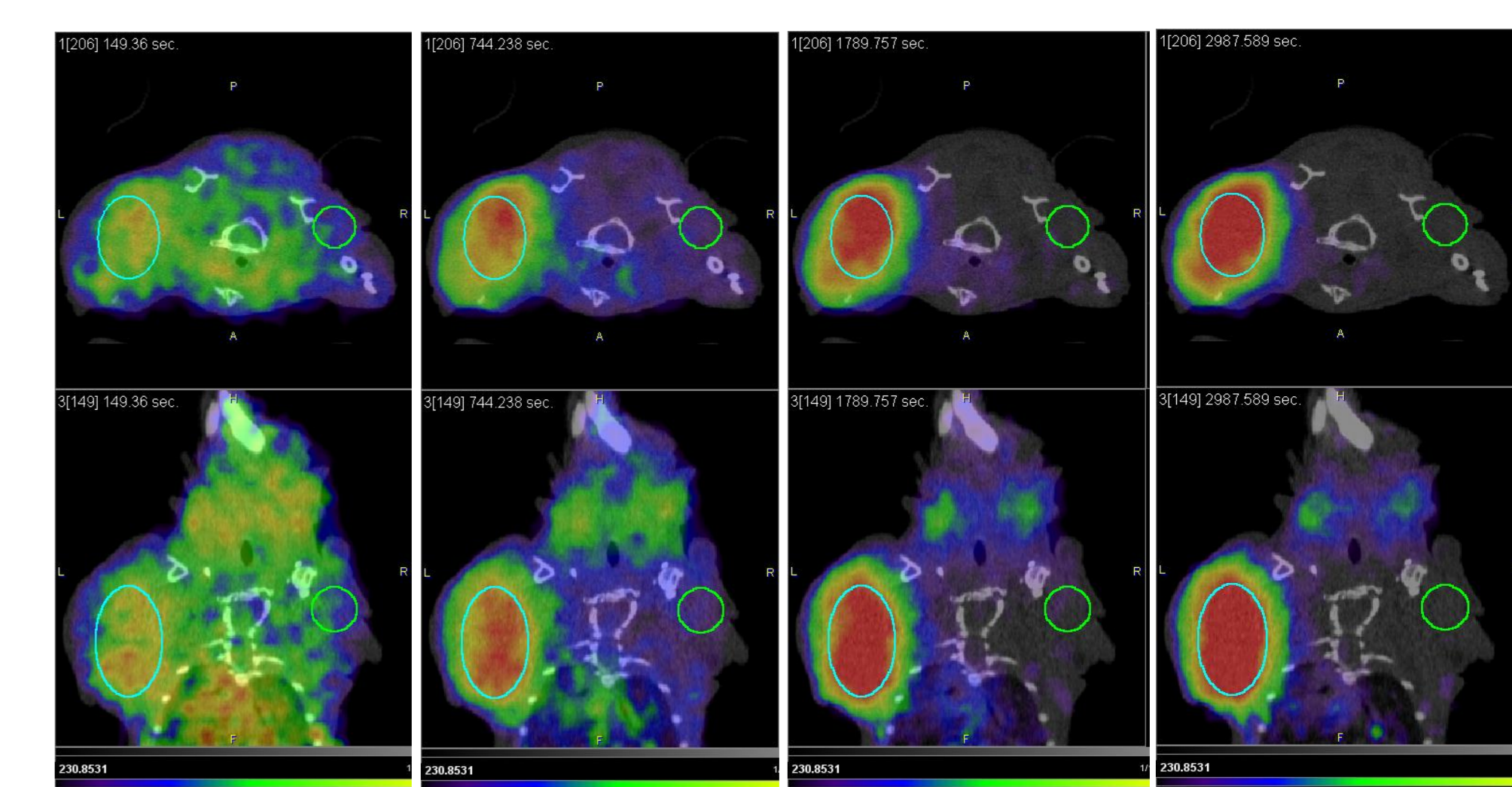
Ensayos *in vivo*

En los ensayos *in vivo*, se utilizaron ratones inmunodeprimidos nude machos de 8-12 semanas, a los cuales se le inocularon 5x10⁶ células LNCaP (vía subcutánea en deltoide izquierdo). Una vez generados los tumores, se administró el radiotrazador vía I.V. en cola y se realizaron imágenes dinámicas PET/CT.

Las imágenes PET/CT obtenidas de los modelos animales mostraron una relación tumor/músculo elevada y permitieron optimizar los tiempos de adquisición.



Imágenes obtenidas en cámara PET/CT de pequeños animales, a distintos tiempos de adquisición pos-inyección de ⁶⁸Ga-PSMA:



(Relación T/N/T = Relación tumor/músculo)

Conclusiones

- Se optimizaron las condiciones de marcación para obtener el radiotrazador ⁶⁸Ga-PSMA con elevada pureza y actividad específica, además presentó adecuada estabilidad *in vitro* e *in vivo*.
- Los primeros estudios en animales evidencian características favorables para su aplicación en el diagnóstico de CaP.
- Los ensayos en células LNCaP resultaron muy auspiciosos, demostrando una buena unión específica del radiotrazador a las células, así como su internalización, lo cual abre el abanico de posibilidades hacia una terapia específica basada en trazadores inhibidores de PSMA.