

Marcación del péptido DOTA-TATE con Lutecio 177: Estudio preliminar

Eleazar Aliaga*, Anita Robles, Bertha Ramos, Flor Martínez

Planta de Producción de Radioisótopos, Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN), Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

Resumen

Se ha realizado la marcación del péptido DOTA-TATE con Lu 177 sin portador agregado, según la metodología proporcionada en el marco del proyecto regional RLA/6/074, auspiciado por el OIEA. La marcación se llevó a cabo en una solución de ácido genticónico 0,26 M en búfer acetato de sodio 0,8 M, pH 5, a una temperatura de 100 °C por 30 minutos en un bloque de calentamiento seco. La pureza radioquímica se evaluó mediante cromatografía en capa fina, utilizando como soporte tiras de ITLC SG y como solvente una mezcla de acetato de amonio 0.15 M – metanol (1:1). El péptido radiomarcado, ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE, alcanzó una pureza radioquímica de 98 % con una actividad específica de 2,8 mCi/μg de péptido.

Abstract

The peptide DOTA-TATE was labeled with lutetium 177 according to the methodology provided under the regional project RLA/6/074, sponsored by the IAEA. The labeling was done in 0.26 M gentisic acid solution in 0.8 M sodium acetate buffer, pH 5, at 100 °C for 30 minutes in a dry heating block. The radiochemical purity was assessed by thin layer chromatography, using ITLC SG strips and a mixture of 0.15 M ammonium acetate - methanol (1:1) as solvent. The radiolabeled peptide ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE reached a radiochemical purity of 98 % with a specific activity of 2,8 mCi/μg of peptide.

1. Introducción

Los tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos (TNE GEP) comprenden un grupo de neoplasias heterogéneas derivadas de las células del sistema endocrino difuso, localizadas en el tracto gastrointestinal que se diagnostican en estadio avanzado en un 60 a 80 % de los pacientes y donde las opciones terapéuticas son limitadas. Estos tumores sobreexpresan receptores de somatostatina, que luego de unirse a su ligando son internalizados. El análogo de somatostatina, DOTATATE tiene una alta afinidad por los receptores de somatostatina del subtipo 2, con una captación tumoral 3 a 4 veces mayor que la del DOTATOC y un tiempo de residencia intratumoral más prolongado por un factor de 2.1 [1].

La terapia con ¹⁷⁷Lu- DOTATATE ofrece un beneficio clínico a los pacientes con tumores neuroendocrinos bien diferenciados avanzados por su impacto positivo en la calidad de vida, el control de los síntomas ralentiza la progresión tumoral y su toxicidad es baja [2].

Los péptidos conjugados con DOTA, como el análogo [DOTA0-Tyr3] Octreotate (DOTA-TATE), pueden ser marcados con isótopos emisores β- para su uso en terapia radionucleídica de receptores de péptidos,

PRRT por sus siglas en inglés, en especial en el tratamiento de las metástasis o de tumores inoperables [3-7], debido a que presentan una alta afinidad y especificidad por los receptores de somatostatina. Los candidatos ideales para PRRT son los pacientes con carcinomas neuroendocrinos bien o moderadamente diferenciados [8]. El Lu 177 tiene características favorables para su uso en terapia radionucleídica, dado que emite partículas beta de baja energía ($E_{\max} \beta^-$ 490 KeV), fotones gamma adecuados para la toma de imágenes (113 KeV (3%), 210 KeV (11 %)), un período de semidesintegración moderadamente largo (6,73 días) [9] y corto alcance ($R_{\max} \sim 1,8$ mm).

Con el uso de DOTATATE marcado con Lu 177 se ha logrado una regresión del tumor. Según el consenso, la masa de péptido debe estar entre 100 y 200 por dosis. En la práctica se acepta una actividad específica de 37 a 74 MBq (1–2 mCi) de ¹⁷⁷Lu por microgramo de precursor [10].

En general los ligandos como el DOTA tienen una gran habilidad para coordinarse fuertemente, en medio acuoso y a temperatura ambiente o mayores, con los

* Correspondencia autor: ealiaga@ipen.gob.pe

iones metálicos como el lutecio. El reconocimiento selectivo del sustrato, la formación de compuestos estables, la capacidad de transporte y la catálisis son ejemplos del intervalo amplio de la aplicación de las propiedades de las moléculas macrocíclicas.

El presente trabajo tiene por objetivo la marcación del péptido DOTA-TATE con Lu 177 y la evaluación de la estabilidad mediante la determinación de la pureza radioquímica empleando la metodología proporcionada en el marco del proyecto regional RLA/6/074, auspiciado por el OIEA [11].

2. Metodología

2.1 Materiales equipos y reactivos

- $^{177}\text{LuCl}_3$ en HCl, sin portador agregado, procedencia ITG
- DOTA-TATE de piChem
- Ácido gentísico de Merck
- Acetato de sodio suprapure de Merck
- Ácido clorhídrico de Merck
- Hidróxido de sodio suprapure de Merck
- Agua desionizada de resistividad ≥ 18.2 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$
- Cubas cromatográficas
- Calibrador de dosis
- Bloque de calentamiento
- Puntas descartables
- Micropipetas
- Refrigeradora
- Papel ITLC-SG de Gelman
- Monitor de radiación
- Microtubos 2 mL

2.2 Procedimiento

2.2.1 Preparación de reactivos

Solución búfer: pesar en un vial de plástico 0,325 g de acetato de sodio y 0,2 g de ácido gentísico. Disolver con 5 mL de agua desionizada y ajustar a pH 5,0 con NaOH 5 M.

Solución DOTA-TATE: en un tubo de plástico colocar 100 μg de DOTA-TATE en 100 μl de solución búfer.

2.2.2 Marcación

Colocar en distintos tubos con tapa rosca 10, 5, 40 y 4 μg de DOTA-TATE y adicionar 10, 10, 120 y 20 mCi de Lu 177, respectivamente (relación mCi de Lu 177/ μg péptido: 1, 2, 3 y

5); ajustar el pH entre 4,5 a 5,0 con la solución búfer, mezclar en vortex y colocar en un bloque de calor seco a 100 °C por 30 min.

2.3 Control de calidad

El control de calidad se efectúa mediante cromatografía en capa fina, utilizando como soporte tiras de ITLC SG de 1 x 12 cm y como solvente una mezcla de acetato de amonio 0.15 M – metanol (1:1). El control se realizó el día de la marcación y a las 24, 48 y 72 h post marcación.

3. Resultados

Se logra obtener el radiofármaco ^{177}Lu -DOTATATE con buena pureza radioquímica para su uso en radioterapia metabólica. Los valores de la pureza radioquímica se muestran en la Tabla 1. La Figura 1 muestra la variación de la PRQ en función de la relación molar DOTATATE/Lu.

Tabla 1. Pureza radioquímica del ^{177}Lu -DOTATATE.

DOTATATE		Lu 177		[DOTA/Lu]	PRQ	Act esp
μg	μmol	mCi	μmol	mol/mol	%	mCi/ μg
4	0,0027	22	0,0011	2,4	62,6	3,4
40	0,0278	113	0,0057	4,8	98,4	2,8
5	0,0035	10	0,0005	6,9	98,5	1,97
10	0,0069	10	0,0005	13,5	95,4	0,9

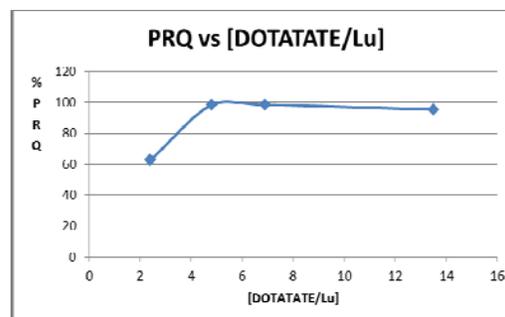


Figura 1. PRQ según la relación molar DOTATATE/Lu.

4. Conclusiones

- Relaciones molares de DOTA/Lu de 5 a 7 permiten obtener ^{177}Lu -DOTATATE con una PRQ mayor al 98 %.
- La mayor actividad específica (2,8 mCi/ μg) se obtiene usando una relación molar DOTA/Lu de 5.

- Los procedimientos proporcionados en el Proyecto ARCAL 6/074 del OIEA permiten marcar el péptido DOTA-TATE con Lu 177 para su uso en terapia radionucleídica con alta pureza radioquímica.
- El método de cromatografía en capa fina es reproducible.

5. Agradecimientos

A los trabajadores Miguel Vásquez y Lupe Espinoza por el apoyo brindado en el manejo de equipos.

6. Referencias

- [1] Müller C, Forrer F, Bernard B. Diagnostic versus therapeutic doses of [¹⁷⁷Lu-DOTA, Tyr3] Octreotate: Uptake and Dosimetry somatostatin receptor positive tumors and normal organs. *Cancer Biother & Radiopharm.* 2007; 22: 151–159.
- [2] Herrera Malo YE, Arévalo Leal JS, Mejía López A. [¹⁷⁷Lu - DOTA - Tyr3] - Octreotate para el tratamiento de Tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos: Revisión sistemática de la literatura. Universidad del Rosario, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Fundación Cardioinfantil, Instituto de Cardiología. Bogotá DC, Colombia; 2013.
- [3] Kwekkeboom DJ, Kam BL, Van Essen M, Teunissen JJ, Van Eijck CH, Valkema R, *et al.* Somatostatin receptor-based imaging and therapy of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocr. Relat. Cancer.* 2010; 17: R53–73.
- [4] Bodei L, Ferone D, Grana CM, Cremonesi M, Signore A, Dierckx RA, *et al.* Peptide receptor therapies in neuroendocrine tumors. *J Endocrinol Invest.* 2009; 32: 360–9.
- [5] Kwekkeboom DJ, De Herder WW, Kam BL, Van Eijck CH, Van Essen M, Kooij PP, *et al.* Treatment with the radiolabeled somatostatin analog [¹⁷⁷Lu-DOTA0, Tyr3] octreotate: toxicity, efficacy, and survival. *J Clin Oncol.* 2008; 26: 2124–2130.
- [6] Bushnell Jr. DL, O'Dorisio TM, O'Dorisio MS, Menda Y, Hicks RJ, Van Cutsem E, *et al.* ⁹⁰Y-Edotreotide for metastatic carcinoid refractory to octreotide. *J Clin Oncol.* 2010; 28: 1652–1659.
- [7] Imhof A, Brunner P, Marincek N, Briel M, Schindler C, Rasch H, *et al.* Response, survival, and long-term toxicity after therapy with the radiolabeled somatostatin analogue [⁹⁰Y-DOTA]-TOC in metastasized neuroendocrine cancers. *J Clin Oncol.* 2011; 29: 2416–2423.
- [8] Maecke HR, Reubi JC. Somatostatin receptors as targets for nuclear medicine imaging and radionuclide treatment. *J Nucl Med.* 2011; 52: 841–844.
- [9] NCHPS Org. Nuclide Safety Data Sheet Lutetium-177. [Internet]. Disponible en: <http://www.hpschapters.org/northcarolina/NSDS/177LuPDF.pdf>
- [10] Breeman WAP, De Blois E, Bakker WH, Krenning EP. Radiolabeling DOTA-peptides with ⁹⁰Y and ¹⁷⁷Lu to a high specific activity. In: Chinol M, Paganelli G, editors. *Radionuclide peptide cancer therapy.* New York: Taylor & Francis; 2006. p. 119–26.
- [11] OIEA-IPEN. Curso Regional de capacitación sobre producción y control de calidad de péptidos para terapia radionucleídica. Lima, Perú 24-28 de noviembre de 2014.