



Cálculo de incertidumbre de masa, actividad y actividad específica, y del factor de corrección por geometría para el Lu-177 de producción local

Calculation of uncertainty of mass, activity and specific activity, and of the geometry factor correction for the local production Lu-177

Crudo JL¹, Aguilar S², Trotta M², Nevares NN², López Bularte AC², Zapata AM², Isolani D³, Quintana J³

¹Laboratorio de Nanomedicina, Centro Atómico Constituyentes. Comisión Nacional de Energía Atómica. (CNEA), Buenos Aires. ²División Radiofarmacia Básica y Aplicada, Centro Atómico Ezeiza (CAE), CNEA, Ezeiza, Buenos Aires. ³Reactor Nuclear RA-3, Centro Atómico Ezeiza (CAE), CNEA, Ezeiza, Buenos Aires.



joseluiscrudo@cnea.gov.ar

Resumen

El presente artículo describe los resultados obtenidos del cálculo de la A.e. y su incertidumbre en la producción local de ¹⁷⁷Lu para un solo batch. Para calcular la incertidumbre de A.e. fue necesario calcular la incertidumbre de masa del blanco enriquecido, el factor de corrección por geometría, y la incertidumbre de actividad conformada por varios componentes calculados en un trabajo previo. También se determinaron las impurezas químicas de hierro (Fe 3+) en el blanco disuelto referidas a la actividad de ¹⁷⁷Lu, debido a su influencia en el rendimiento de marcación con ¹⁷⁷Lu de péptidos conjugados al

agente quelante 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N",N"'-tetraacético (DOTA). Se menciona la relevancia internacional del ¹⁷⁷Lu de alta A.e. como precursor radiofarmacéutico, debido a la creciente demanda de radiofármacos para el tratamiento del cáncer como ser ¹⁷⁷Lu-DOTA-PSMA-617 y ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE.

Palabras clave: ¹⁷⁷Lu de alta actividad específica, Cálculo de incertidumbre, ¹⁷⁷Lu con portador, ¹⁷⁶Lu altamente enriquecido, Impurezas de hierro.

Abstract

The present article describes the results obtained of the calculation of the S.A. and its uncertainty in the local production of 177Lu for single one batch. To calculate S.A.'s uncertainty was necessary to calculate the uncertainty of mass of enriched target, the geometry correction factor and the uncertainty of activity shaped by several components calculated in a previous work. Also there determined the chemical impurities of iron (Fe 3+) in the target referred to ¹⁷⁷Lu activity. due to its influence in the 177Lu labelling yield of 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-N,N',N"',N""tetraacetic acid (DOTA)-peptides. The relevance of H.S.A. ¹⁷⁷Lu as radiopharmaceutical precursor was mentioned specially because of the growing demand of therapeutic radiopharmaceuticals against cancer like 177Lu-DOTA-PSMA-617 and ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE.

Key words: H.S.A. ¹⁷⁷Lu, Uncertainty calculation, ¹⁷⁷Lu (c.a.), ¹⁷⁶Lu highly enriched, Iron impurities.

Introducción

El Lutecio pertenece a la familia de elementos químicos llamados lantánidos. El radioisótopo ¹⁷⁷Lu tiene un período de semidesintegración (T_v) de 6,6475 d y decae por emisión de partículas $\hat{\beta}$ con energía máxima de 498.3 KeV (abundancia 79.3 %), 385.4 KeV (abundancia 9.1 %) y 177.0 KeV (abundancia 11.64 %) al isótopo estable Hafnio-177. La penetración máxima en tejido del βemitido por el ¹⁷⁷Lu (3 mm) permite la entrega eficaz de radiación a tumores reduciendo al mínimo el daño al tejido normal advacente. Entonces sus emisiones β⁻ son más favorables para el tratamiento pequeñas metástasis que las emisiones ß del ⁹⁰Y (penetración máxima en tejido de 12 mm). Las emisiones gama del ¹⁷⁷Lu de 112.95 KeV (6.20 %) y 208.37 KeV (10.38 %), son una ventaja adicional. Estas nos dan la posibilidad de realizar autoradiografías digitales, adquisición de imágenes en cámara gama y en SPECT (tomografía computada de fotón simple) y de realizar estudios de dosimetría interna con el mismo agente usado para terapia radionucleídica.

Las propiedades físicas y químicas del ¹⁷⁷Lu lo hacen excelente radionucleído para el desarrollo de radiofármacos terapéuticos. Desde hace 18 años, que ¹⁷⁷lu-DOTA-[Tyr3]-octreotate (¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE) es aplicado exitosamente para la Terapia Radionucleídica de Receptores de Péptidicos

(PRRT) en más de 1200 pacientes con tumores neuroendócrinos Gastroenteropancreáticos (TN-GEP) bien diferenciados y tumores neuroendócrinos bronquiales. 177Lu-DOTA-PSMA-617 es un pequeño inhibidor de molécula que se une con la alta afinidad a la Antígeno Prostático Específico de Membrana (PSMA). Recientemente, el tratamiento de cáncer de próstata metastásico resistente a la castración (mCRPC) en pacientes con este radiofarmaco mostró altas tasas de respuesta, bajos efectos tóxicos, y la reducción de dolor en los hombres que han progresado después de tratamientos convencionales⁽¹⁾. Hace algunos años, la producción local de 177Lu de baja A.e. (0.001 GBq/nmol) al final de bombardeo (EOB) limitaba su uso al desarrollo de radiofármacos para el tratamiento paliativo de dolor de metástasis ósea por ejemplo, 177Lu-EDTMP(2) v ¹⁷⁷Lu-1,4,7,10 tetraazacyclododecano N, N ', N ", N " 1,4,7,10-tetrametilenfosfonico (DOTMP)(3). Como consecuencia de la participación en dos Provectos Coordinados de Investigación del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA)(4-5), fue posible iniciar y sostener la producción a escala de laboratorio de ¹⁷⁷Lu c.a. Este hecho nos permitió investigar y desarrollar radiofármacos terapéuticos basados en péptidos análogos de minigastrina (MG) (6), somatostatina (SS)(7-8), sustancia P (SP)(9), bombesina (BN)(10) y anticuerpos monoclonales Anti-CD20(11-12), y receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)(13-14).

La preparación de radiofármacos terapéuticos basados en anticuerpos monoclonales y péptidos requiere ¹⁷⁷Lu con adecuadas A.e. y pureza química. Estos son factores críticos que influencian la estabilidad, el rendimiento de marcación y la captación del tumor mediada por receptores. Por ello es importante calcular la A.e. de 177Lu de producción local y su incertidumbre para un solo batch de ¹⁷⁷Lu de manera de asegurar el rango de Ae obtenido cuando se reproducen dentro de ciertos parámetros las condiciones de enriquecimiento del blanco de ¹⁷⁶Lu, el flujo de neutrones, la potencia del reactor, el tiempo de irradiación y el tiempo de procesamiento del radionucleido. Para calcular la incertidumbre de A.e. fue necesario calcular la incertidumbre de masa, el factor de corrección por geometría, y la incertidumbre de actividad conformada por varios componentes calculados en un trabajo previo.

Objetivos

Calcular el factor de corrección por geometría y posteriormente la incertidumbre de la masa, activi-

dad y actividad específica (A.e.) en la producción experimental de Lutecio-177 de alta A.e. Comparar la concentración de Lu-176 obtenida por gravimetría con la técnica de fluorescencia de RX. Calcular el nivel de impurezas de Fe en función de la actividad de Lu-177. Discutir la importancia de estos parámetros en la aplicación del Lu-177 como precursor radiofarmacéutico en el tratamiento del cáncer.

Materiales y métodos

La producción de 177Lu por el método directo está basada en la reacción nuclear [176Lu (n,γ) 177Lu]. Su sección eficaz es de 1778 barns⁽¹⁵⁾. Brevemente, el procedimiento consiste en los siguientes pasos: Disolución en HCl del Lu,O, enriquecido isotópicamente (86.5 %). Alicuotado de una solución de Lu masa prepesada en una ampolla de cuarzo. Evaporación de la alícuota a sequedad. La ampolla de cuarzo fue sellada en llama de acetileno y colocada en un contenedor de aluminio (minican). El Minican fue cerrado por presión y probada su estanqueidad. El Minican fue colocado en la posición de flujo máximo de neutrones de RA-3 e irradiado durante 2 ciclos de 76 h. Al final del bombardeo (EOB), el minican fue transferido a la celda radiactiva del reactor y abierto. La ampolla radiactiva fue transferida a la campana radiactiva del laboratorio de Radiofarmacia.

La ampolla radiactiva fue abierta.

El blanco radiactivo fue disuelto en 5-10 μ L de HCl. La solución de 177 Lu fue extraída por centrifugación inversa.

La dilución pre y post irradiación del blanco fue realizada usando HCl suprapur bidestilado en un equipo de teflón con el objetivo de reducir impurezas químicas. La radiactividad fue medida en un activímetro calibrado CRC-15 (Capintec).

Determinación del enriquecimiento del blanco de ¹⁷⁶Lu por Espectrometría de masa de plasma inductivo (ICP-MS).

Durante 2016-2018, fueron empleados 11.4 mg del blanco de Lu_2O_3 enriquecido al 86.5 % en ^{176}Lu (Trace Sciences International) proporcionado por la OIEA. El blanco fue disuelto en 5.53 mL de HCl. 10 μL de esta solución madre fueron diluidos a 61 μL de volumen final con HCl (solución final). Aproximadamente 9 μL de la solución final fueron diluidos 1 a 1 con HNO $_3$ concentrado y finalmente diluido a 10 mL. Una muestra fue analizada por ICP-MS. para determinar $^{176}Lu/^{175}Lu + ^{176}Lu$ en el Laboratorio de Química Analítica en Medios Activos, CAE, CNEA.

Determinación de la concentración de Lu y del nivel de impurezas metálicas por espectroscopía de fluorescencia de rayos X (TXRF).

La concentración de Lu en la solución final fue determinada por TXRF en Laboratorio de Fluorescencia de Rayos X, CAC, CNEA. La determinación fue hecha usando un espectrómetro S2Picofox (Bruker) apropiado para el análisis de trazas de elementos. Las impurezas de Fe, Mn, Sr, Cr, Ni, Cu y Zn en la solución del blanco enriquecido de ¹⁷⁶Lu fueron determinadas según la misma metodología. Las impurezas de Fe fueron expresadas como µg de Fe por Ci de ¹⁷⁷Lu.

Cálculo del factor de corrección por geometría para la ampolla contenedora del Lu-177.

El procedimiento de cálculo del factor de corrección por geometría se describe brevemente. Una fracción de la solución madre de 177Lu fue puesta en un frasco tarado de 10.0 mL con la misma geometría que la fuente de calibración de referencia. El vial que contiene la solución fue pretarado en una balanza analítica y la masa de la fracción (se llamó m.) fue calculada por la diferencia de pesada. El frasco fue llenado con 1.0 mL de agua y cerrado. La actividad en el frasco fue certificada por el Laboratorio de Metrología Radioisótopos (LMR), CAE, CNEA. La concentración de Actividad (C.A) de la solución madre de 177Lu fue calculada dividiendo la actividad certificada por m₁. Una segunda fracción de la solución madre de ¹⁷⁷Lu fue puesta en una ampolla de cuarzo vacía pretarada. La ampolla conteniendo la solución radiactiva fue pesada en una balanza analítica y la masa de la solución (llamada m₂) fue calculada por diferencia. La ampolla de cuarzo conteniendo el ¹⁷⁷Lu fue medida en nuestro activímetro. La actividad teórica en la ampolla de cuarzo fue calculada multiplicando la C.A. de ¹⁷⁷Lu de la solución madre por m₂. La corrección de factor de geometría (G_f) para la actividad de ¹⁷⁷Lu de la ampolla de cuarzo fue calculada según la Ecuación 1.

$$G_f = \frac{(M.A.)}{(T.A.)}$$
 Ecuación 1

Donde M.A. y T.A. son la actividad medida en la ampolla de cuarzo y la actividad teórica en la ampolla de cuarzo respectivamente.

Medición y evaluación de las incertidumbres de masa de Lu, actividad de ¹⁷⁷Lu y actividad específica de ¹⁷⁷Lu.

La evaluación de la incertidumbre de masa de Lu en la ampolla de cuarzo fue realizada usando la Guía de EURACHEM/CITAC como una referencia⁽¹⁶⁾. Hay tres fuentes de incertidumbre para la pesada: i) Repetibilidad (μ rep); ii) lectura (resolución digital) de la escala de la balanza (μ resol) y iii) la contribución debido a la incertidumbre en la función de calibración de la escala (μ calib). μ masa fue calculada con la Ecuación 2.

$$\mu_{mass} = \sqrt[2]{\mu_{rep}^2 + \mu_{resol}^2 + \mu_{calib}^2}$$
 Ecuación 2

- i) La repetibilidad fue realizada para estimar la incertidumbre de medida de 11.4 mg de Lu_2O_3 , masa de 5.53 mL de HCl, masa de 10 μ L de la solución de madre de Lu, masa de 61 μ L de HCl y masa de 9 μ L de la solución final de Lu en la ampolla de cuarzo. Todas las determinaciones (n=3) fueron hechas por el mismo operador a la misma temperatura (25 °C).
- ii) la resolución Digital fue 0.1 mg para la balanza analítica del fabricante Lu₂O₃ y 0.00001 mg para la balanza analítica de nuestro laboratorio.
- iii) El μ de calibración fue 0.15 mg para la balanza analítica del fabricante Lu_2O_3 y 0.22 mg para la balanza analítica en nuestro laboratorio.

La actividad de ¹⁷⁷Lu en la ampolla de cuarzo fue medida diez veces (n = 10) después de la medida de fondo en el activímetro calibrado.

Evaluación de incertidumbre de actividad de 177 Lu (μ A) en una ampolla de cuarzo.

La evaluación de la incertidumbre de la actividad de 177 Lu (μA) en la geometría de ampolla de cuarzo se determinó previamente utilizando la metodología descrita en un protocolo ARCAL $^{(17)}$, usando la Ecuación 3.

$$\mu_A = \sqrt[2]{\mu_K^2 + \mu_G^2 + \mu_R^2 + \mu_L^2 + \mu_e^2 + \mu_D^2 + \mu_b^2 + \mu_f^2 + \mu_{ot}^2} \quad \text{Ecuación 3}$$

donde μ_K , μ_G , μ_R , μ_L , μ_e , μ_D , μ_b , μ_f y μ_{ot} son las incertidumbres de calibración, factor de geometría, repetibilidad, linealidad, estabilidad, resolución de pantalla, fondo, desintegración radiactiva e incertidumbre de impureza radiactiva respectivamente. La incertidumbre de la actividad específica de Lu-177 (μ S.A.) por Lu total para un solo lote se calculó mediante la Ecuación 4.

$$\mu_{S.A.} = \sqrt[2]{\left(\frac{\mu_A}{m}\right)^2 + \left(\frac{A*\mu_m}{m^2}\right)^2}$$
 Ecuación 4

donde A es $\,$ la actividad de ^{177}Lu en la ampolla de cuarzo, m y μ_m son la masa total de Lu en la ampolla de cuarzo y su incertidumbre.

La incertidumbre de la actividad específica de Lu-177 referida a la masa de Lu-176 (μ S.A. ¹⁷⁶Lu) se calculó a través de la Ecuación 5.

$$\mu_{S.A.}^{176}L\mu = \sqrt{\left(\frac{\mu_{S.A}}{ratio\left(\frac{176Lu}{Lu_{total}}\right)^2} + \left(\frac{S.A.*\mu_{ratio}\left(\frac{176L\mu}{L\mu_{total}}\right)^2}{ratio\left(\frac{176L\mu}{L\mu_{total}}\right)^2}\right)^2}$$
 Ecuación 5

donde la proporción (¹⁷⁶Lu/Lu total) fue la cantidad de ¹⁷⁶Lu referida a Lu total en el blanco y la relación μ (¹⁷⁶Lu/Lu total) fue la incertidumbre de la relación (¹⁷⁶Lu/Lu total) en el blanco determinado por espectrometría de ICP-masa.

Aplicación del Z score a la comparación de valores de concentración de Lu obtenidos por gravimetría y por análisis TXRF:

La metodología de Z-score se aplicó para decidir si los valores de concentración de Lu obtenidos de la gravimetría y del análisis de TXRF tenían una diferencia estadísticamente significativa. Se utilizó la norma International Standard Organization (ISO) 13528⁽¹⁸⁾. Se utilizó la incertidumbre expandida (k = 2) para la concentración de Lu a partir del pesaje tarado y del análisis de TXRF.

Condiciones de irradiación del blanco de ¹⁷⁶Lu:

Durante 2017 y 2018, veinticuatro blancos de ¹⁷⁶Lu enriquecido al 86.5 % fueron irradiados en la trampa de neutrones del Reactor RA-3 con un flujo estimado de 2.1*10^14 n*cm-2*seg-1. Un blanco fue irradiado por un ciclo (77 h), otro por tres ciclos (224 h) y el resto de ellos por dos ciclos (aprox. 122-159 h). El tiempo de irradiación de cada ciclo y la potencia máxima del reactor no fueron reproductibles debido a razones operativas y de servicio.

Procesamiento del blanco irradiado:

El minican de aluminio se activó, a causa de la reacción nuclear 27 Al (n,α) 24 Na. Este decae con el período de semidesintegración del 24 Na (T 1 /2 14.9574 h) $^{(19)}$. Se instaló un sistema de apertura en la celda radiactiva del RA-3 para abrir el minican activado al EOB. La actividad del 177 Lu contenido en la ampolla de cuarzo fue medida en un activímetro calibrado. La ampolla fue abierta en el sistema de apertura instalado en la celda radiactiva del laboratorio de radiofarmacia. El 177 Lu fue diluido en HCl $(10\text{-}20~\mu\text{L})$, extraído de la ampolla por centrifugación inversa y medido en un activímetro calibrado para calcular la concentración de actividad antes de radiomarcar biomoléculas conjugadas con el agente quelante DOTA.

Resultados

Determinación del enriquecimiento del blanco de ¹⁷⁶Lu por Espectrometría de masa de plasma inductivo (ICP-MS).

La relación ¹⁷⁶Lu/ (¹⁷⁵Lu + ¹⁷⁶Lu) calculada de valores sin el factor de corrección de masas fue de 86.8 ± 0.9 %. Este resultado coincidió con la especificación del fabricante. Este fue el blanco de mayor enriquecimiento empleado hasta el momento. Los blancos utilizados previamente tenían un enriquecimiento en ¹⁷⁶Lu del 2.59 (natural), 39.6 y 82.0 % y fueron provistos por otro fabricante.

Determinación de la concentración de Lu y del nivel de impurezas metálicas por TXRF.

La concentración de Lu en la solución de madre calculada a partir de la masa de Lu₂O₂ y el volumen de HCl fue 1.81 mg/mL. Considerando estos datos, la masa de final del blanco de Lu presente en la ampolla de cuarzo fue 2.49 µg. La concentración de Lu determinada por TXRF fue 1.850 ± 0.145 mg/mL. La concentración de hierro en la solución de madre de Lu determinada por TXRF fue 42 ± 3 mg/L. Entonces la cantidad de Fe en la ampolla de cuarzo fue de 0.056 µg. La actividad de ¹⁷⁷Lu en la ampolla fue de 66.5 mCi al EOB. La concentración de impureza de hierro referida a la actividad de ¹⁷⁷Lu fue 0.84 ug de Fe/Ci de 177Lu. Las concentraciones de Mn y Sr fueron 0.60 ± 0.07 y 0.22 ± 0.02 mg/L respectivamente. Las concentraciones de Cr, Ni, Cu y Zn fueron inferiores a 0.1 mg/L.

Cálculo del factor de corrección por geometría para la ampolla contenedora del Lu-177.

La solución de madre de 1.33 mg tuvo una actividad certificada de 0.904 mCi. Esto quiere decir que la C.A. fue de 0.68 mCi/mg de solución. Como la masa $\rm m_2$ fue de 16.46 mg, entonces la actividad teórica en la ampolla de cuarzo fue 11.20 mCi. La actividad medida en la ampolla de cuarzo fue de 9.854 mCi. El factor de corrección por geometría calculado ($\rm G_f$) para la actividad de $\rm ^{177}Lu$ en la ampolla de cuarzo fue 0.88.

Medición y evaluación de las incertidumbres de masa de Lu, actividad de ¹⁷⁷Lu y actividad específica de ¹⁷⁷Lu

La incertidumbre de masa del blanco de Lu calculada a partir de los datos de la balanza del fabricante fue 0.18 mg. Las masas de 5.53 mL de HCl suprapur, $10~\mu L$ de solución madre de Lu, 61~y~9

μL de la solución final de Lu y sus incertidumbres fueron 6541.09 ± 0.23, 11.22 ± 0.22, 72.12 ± 0.22 y 10.42 ± 0.22 mg respectivamente. La concentración de Lu₂O₃ en la solución madre y en la solución final y sus incertidumbres fueron 0.00174 ± 0.00003 y 0.00027 ± 0.000007 mg óxido/mg HCl respectivamente. La masa de Lu₂O₃ en la ampolla de cuarzo y su incertidumbre fue 2.83 ± 0.09 μg respectivamente. La masa calculada de Lu en la ampolla de cuarzo (m) y su incertidumbre (μ_m) fue 2.49 y 0.08 μg respectivamente. μ_K, μ_G, μ_R, μ_L, μ_e, μ_D, μ_b, μ_f y μ_{ot} obtenidos en un trabajo previo fueron 0.067, 0.00023, 0.0018, 0.00345, 0.0089, 0.00043, 0.000016, 0.000429 y 0 respectivamente.

La incertidumbre de calibración del activímetro (μ_K) fue el término de mayor peso en la incertidumbre de actividad. La incertidumbre de la actividad de ¹⁷⁷Lu en la ampolla de cuarzo (μ_A) calculada usando la ecuación 3 fue 4.5 mCi. La incertidumbre de A.e. del ¹⁷⁷Lu calculada aplicando la ecuación 4 fue 2.0 mCi/ μ g de Lu. La incertidumbre de A.e. de Lu-177 referida a masa de Lu-176 (μ S.A. ¹⁷⁶Lu) obtenida utilizando la ecuación 5 fue 2.3 mCi/ μ g de Lu-176.

Aplicación del Z score a la comparación de valores de concentración de Lu obtenidos por gravimetría y por análisis TXRF:

La diferencia entre ambos resultados de concentración de Lu fue 0.09 mg/mL. Esto es aproximadamente el 4.9 % de la concentración de Lu. El resultado del Z-score fue inferior a 1. Esto significa que no hay ediferencias estadisticamente significativas entre ambas concentraciones de Lu. Teniendo en cuenta este resultado, el valor de concentración de Lu proveniente de la gravimetría fue elegido para calcular la masa del blanco de Lu y la A.e. del ¹⁷⁷Lu en la ampolla de cuarzo. De este modo el resultado fue independiente de la densidad de la solución de HCl y de la temperatura.

Condiciones de irradiación del blanco de 176Lu: Un blanco de masa de 2.49 μg de Lu fue irradiado en el RA-3 por dos ciclos de 76 h. La actividad de ¹⁷⁷Lu medida en la ampolla de cuarzo fue de 45.2 mCi. La actividad corregida por el factor de geometría fue 51.4 mCi. La actividad de ¹⁷⁷Lu en la ampolla de cuarzo al EOB fue 66.5 mCi. La A.e. de ¹⁷⁷Lu al EOB fue de 26.7 mCi/μg de Lu. Por último la A.e. de ¹⁷⁷Lu referida a masa de Lu-176 fue de 30.8 mCi/μg.

El máximo porcentaje de recupero de la actividad de ¹⁷⁷Lu obtenido después de la apertura de la am-

Procesamiento del blanco irradiado:

polla de cuarzo fue del 98.9 %. La concentración de actividad máxima del ¹⁷⁷Lu fue de 6.6 mCi/µL.

Discusión

Existen diversas definiciones de actividad específi-

ca (A.e.) dependiendo de la especialización profesional de la gente que las emplea. La siguiente es usada por los radioquímicos para expresar la A.e. de los radionucleídos (Ecuación 6).

$$S.A. = \frac{A^{177}L\mu}{\sum_{mass} (^{175+176+176m+177+177m}L\mu - ^{177}Hf)} = \frac{[Ci]}{[mg] \text{ of } L\mu} \text{ or } \frac{[GBq]}{[nmol] \text{ of } L\mu} \text{ Ecuación 6}$$

$$S.A. = \frac{A^{177}L\mu}{mass_{DOTA-petide}} = \frac{[mCi]}{[\mu g] \text{ of DOTA - peptide}} \text{ or } \frac{[GBq]}{[nmol] \text{ of DOTA - peptide}}$$
 Ecuación 7

La ecuación 7 es de uso más común por los radiofarmaceutas y es más apropiada para expresar la A.e de los radiofármacos.

La última expresión en unidades [mCi]/[µg] tiene una desventaja. La A.e. de la molécula radiomarcada cambia para cada molécula según su peso molecular. Ambas ecuaciones expresadas en [GBq]/[nmol] dan resultados que son independientes del peso atómico y de diferencias del peso molecular. De este modo la comparación de A.e. entre un radionucleído (antes de la marcación) y su radiofármaco (obtenido después de la marcación) es sencilla.

La relevancia experimental del cálculo de la A.e y su incertidumbre en los radionucleídos como precursores radiofarmacéuticos puede ser ilustrada como sigue. En 2007, era sólo posible producir en nuestro laboratorio ¹⁷⁷Lu de baja A.e (1.42 Ci/mg o 0.009 GBq/nmol). La radiomarcación de DOTA-Lanreotide (un análogo sintético de la somatostatina) bajo esta condición produjo un rendimiento del 99.0 % cuando la relación molar péptido:Lu era 8.3:1 y ¹⁷⁷Lu-DOTA-Lanreotide con una A.e, de 0.02 mCi/ μg⁽²⁰⁾ o 0.001 GBg/nmol. Esto es 50-100 veces más bajo que la A.e. recomendada por las guías internacionales. Desde luego dicho producto no cumple las condiciones para el uso clínico. Cuando la relación molar péptido:Lu se redujo a 3.3:1, el rendimiento de marcación descendió al 47.0 %. Otra vez el producto no cumple con las condiciones apropiadas para su uso clínico. El único modo de obtener alto rendimiento de marcación y una elevada A.e de ¹⁷⁷Lu-DOTA-péptidos es incrementando la A.e. del

Sólo 177 Lu de alta A.e. (> 20 Ci/mg o 0.129 GBq/nmol de Lu) con bajo nivel de impurezas de hierro son capaces de radiomarcar diferentes DOTA-PÉPTIDOS con suficiente A.e. para el potencial uso clínico. Esto implica que la A.e. y su incertidumbre calculadas para el 177 Lu (26.7 \pm 2.0 mCi/µg de Lu o 0.172 \pm 0.013 GBq/nmol de Lu) de producción

local obtenido por el método directo satisfacen esta especificación de precursor radiofarmacéutico. Es importante aclarar que por ser un radionucleído con portador, la masa total de Lu m (175+176+176m+177mLu) permanece prácticamente constante dado que la transformación de 177Lu a 177Hf es despreciable, pero como su Actividad disminuye con su T_{1/2}, entonces su A.e. disminuye con el tiempo, desde el EOB. Por lo cual es recomendable realizar las marcaciones inmediatamente recibido el radionucleído para maximizar el rendimiento de marcación.

La guía internacional sobre PRRT de TN recomienda que la pureza radioquímica (PR) de los radiofármacos no sea inferior al 98 %⁽²¹⁾. Para obtener una PR elevada es necesario tener un alto rendimiento de marcación basado en la optimización de las condiciones de marcación (pH, temperatura y tiempo de incubación), en un bajo nivel de impurezas químicas y una alta A.e. del radionucleído. La guía internacional recomienda que la masa de péptido sea 100-200 µg por paciente. Rutinariamente, esta masa de péptido es marcada con 200 mCi de ¹⁷⁷Lu con portador.

Esta actividad por paciente fue aprobada en enero de 2018 por la FDA para el tratamiento de TN. En esta condición, la A.e. del ¹⁷⁷Lu-DOTA-TATE es 0.053-0.106 GBq/nmol de péptido (1-2 mCi/μg). Teóricamente, en el caso que no hubiera presente impurezas químicas y la reacción de complejación del ¹⁷⁷Lu-DOTA-péptido tuviera rendimientos cuantitativos (DOTA-péptido: Lu, 1:1), 1 nmol de DOTA-péptido podría incorporar 1 nmol de radionucleído. Por ejemplo, el número 0.053 GBq/nmol indica la máxima A.e. teórica de un DOTA-péptido radiomarcado que podría ser obtenido a partir de ¹⁷⁷Lu con A.e. de 0.053 GBq/nmol (8 Ci/mg de Lu).

La segunda especificación que debe cumplir el ¹⁷⁷Lu como precursor radiofarmacéutico es el nivel de impurezas.

La presencia de iones metálicos (Pb(2+), Zn(2+), Cu(2+), Fe(3+), Al(3+), Ni(2+), Co(2+), Cr(3+)) en la solución de ¹⁷⁷Lu puede afectar desfavorablemente el rendimiento de marcación de DOTA-TA-TE⁽²²⁾. En nuestros resultados, la concentración de los iones metálicos analizados fue 70 veces inferior respecto de la concentración Fe. Lamentablemente, las impurezas de Fe(3 +) son las que más afectan este rendimiento. Por ejemplo, [Fe3+] de 0.3 µg/Ci de ¹⁷⁷Lu no modifican el rendimiento, pero [Fe3+] más altas que 1 µg/Ci de 177Lu(23) disminuven el rendimiento de tal manera que impiden el uso clínico del radiofármaco. Los resultados obtenidos del cálculo de actividad, su incertidumbre y la concentración de hierro y su incertidumbre determinada por TXRF muestran que es un 16 % inferior a 1 µg/Ci de ¹⁷⁷Lu al EOB, con lo cual el ¹⁷⁷Lu producido localmente cumple con las recomendaciones para su uso como precursor radiofarmacéutico. Sin embargo, un aspecto adicional para ser considerado es que las impurezas Fe expresadas como µg/Ci de ¹⁷⁷Lu se incrementan con el tiempo desde EOB debido a la disminución de actividad del ¹⁷⁷Lu por decaimiento. Por lo cual es mandatorio realizar las marcaciones minimizando el diferencial de tiempo entre el EOB v la marcación.

Por ello y por la disminución de la A.e. previamente mencionada el ¹⁷⁷Lu con portador es especialmente apropiado para aplicaciones clínicas en laboratorios de radiofarmacia o servicios de medicina nuclear cercanos a los centros de producción.

El rendimiento de marcación de DOTA-TATE con ¹⁷⁷Lu es dependiente del pH, siendo máximo entre el pH 4.0-4.5 y puede controlarse usando soluciones reguladoras o buffer. A consecuencia de esto, se recomienda usar sustancias de bajo contenido en hierro para preparar las soluciones buffer. En un estudio experimental previo demostramos que en condiciones optimizadas, el ¹⁷⁷Lu localmente producido y con A.e. e incertidumbres calculadas es apropiado para la marcación de DOTA-TATE con alta PR (99.0 %) y una A.e. final S.A. de 0.026 GBq/nmol de péptido (0.5 mCi/μg)⁽²⁴⁾.

Conclusiones

Se desarrolló un método para obtener el factor de corrección por geometría para la ampolla con Lu-177, mostrando que su determinación es crucial para el cálculo posterior de actividad y actividad específica y sus incertidumbres, que fueron calculadas por primera vez para la producción experimental de Lu-177 de alta actividad específica. Los resultados obtenidos de A.e. de Lu-177 y de [Fe] por actividad de Lu-177 muestran que este producto cumple los requerimientos básicos para ser empleado como precursor radiofarmacéutico en la marcación de DOTA-TATE y potencialmente para DOTA-ligando PSMA.

Agradecimientos

Jorge Diodatti, Laboratorio de Química, Autoridad Regulatoria Nuclear.

Diego Martin, Gestión de Interlaboratorios, CAC, CNEA. Edgardo Bouza, Laboratorio de Química Analítica en Medios Activos, CAE, CNEA.

María Fernanda Gonzalez y Graciela Custo, Laboratorio de Fluorescencia de Rayos X, CAC, CNEA.

Claudia Guardo, Selva Bertola y Gabriela Cerrutti, Laboratorio de Metrología de Radioisótopos, CAE, CNEA.

Declaración de conflictos de interés:

Los autores declaran que no poseen conflictos de interés

Referencias

- 1. Brabander T et al. Long-Term Efficacy, Survival, and Safety of [177Lu-Dota 0,Tyr3] octreotate in Patients With Gastroenteropancreatic and Bronchial Neuroendocrine Tumors. Clin Cancer Res. 2017; 23(16): 4617-4624.
- Puerta Yepes N, Pérez JH, Nevares NN, et al. Estudio biocinético y dosimétrico de un kit de producción local de 177Lu-EDTMP para su uso como agente paliativo del dolor. Alasbimn Journal. Julio 2011; 13(53): AJ53-3.
- 3. López Bularte AC, Puerta Yepes N, Pérez JH, et al. Evaluación y estudio dosimétrico de un kit de DOTMP para marcación con 177Lu de uso potencial como agente paliativo del dolor provocado por metástasis ósea. Revista de la Asociación Argentina de Biología y Medicina Nuclear. 2013; 4(1): 13-19.
- Crudo J. Radiopharmaceuticals labelled with 177-Lu for targeted therapy. Reporte inicial de Argentina en la Primera reunión del convenio coordinado de investigación OIEA Headquarters, Viena, Austria, 4-8 de Diciembre de 2006. Publicación interna del OIEA.
- 5. Crudo J. Informe inicial del Convenio Coordinado de Investigación titulado "Development and preclinical evaluations of ¹⁷⁷Lu and ⁹⁰Y la-

- beled monoclonal antibodies and peptides for radionuclide therapy". OIEA Headquarters, Viena, Austria, 9-13 de Mayo de 2011. Publicado por OIEA.
- 6. López Bularte A, Puerta Yepes N, Nevares N, et al. Desarrollo de un radiofármaco terapéutico 177Lu-DOTA-minigastrina para su potencial uso en PRRT. Memoria técnica 2010, Autoridad Regulatoria Nuclear, pag. 123-140. Disponible en: http://www.iaea.org/inis/collection/NCL-CollectionStore/ Public/44/096/44096787.pdf
- 7. Nevares N, Villareal Jiménez Y, Deluca G, et al. Obtainment of 177Lu-DOTA-LANREOTIDE for in-vivo studies. Nucl Med Biol. 2010; 37(6): 697.
- Crudo J, López Bularte A, Trotta M, Nevares N. Obtención de 177Lu-DOTA-TATE a partir de 177LuCl3 de alta AE de producción experimental en Argentina. Poster. XXV Congreso ALASBIMN, Punta del Este, Uruguay, del 18 al 21 de Noviembre del 2015.
- 9. Nevares N, López Bularte AC, Puerta Yepes N, et al. Ensayos in-vitro e in-vivo del péptido marcado 177Lu-DOTA-Sustancia P y evaluación de los cálculos dosimétricos en la etapa preclínica. Alasbimn Journal 2010; 12(49): 1-12, AJ49-4.
- 10. López Bularte A, Beckford Vera D, Nevares N, et al. Ensayos in vitro e in vivo de un análogo de Bombesina marcado con Lu-177 usando un nuevo agente quelante derivado de DOTA. Presentación oral. XXV Congreso ALASBIMN, Punta del Este, Uruguay, del 18 al 21 de Noviembre del 2015.
- 11. Crudo JL, Nevares NN, López Bularte AC, et al. Producción experimental de Lutecio-177 de alta actividad específica para la marcación de anticuerpos monoclonales de uso potencial en radioinmunoterapia. Revista de la Asociación Argentina de Biología y Medicina Nuclear. 2013; 4(3): 5-15.
- 12. Crudo JL, Nevares NN, López Bularte AC, et al. Avances en la evaluación preclínica y dosimétrica de 177Lu-DTPA-SCN-Rituximab® de uso potencial en radioinmunoterapia de Linfoma no Hodgkin. Revista de la Asociación Argentina de Biología y Medicina Nuclear, 2014; 5(3): 90-98.
- Nevares NN, López Bularte AC, Trotta M, Aguilar S, Zapata A, Crudo J. Ensayos preliminares en la obtención del 177Lu-Bn-DTPA--Cetuximab. Presentación oral. XXVI Congreso

- ALASBIMN, Santiago de Chile, Chile, del 23 al 26 de Noviembre del 2017.
- 14. Trotta M, Lopez Bularte A, Nevares N, et al. Ensayos preliminares in vitro con 177Lu-Bn-DTPA-Cetuximab como modelo para evaluar nuevos radiofármacos basados en Lu-177. Poster. Congreso ALASBIMN, Santiago de Chile, Chile, del 23 al 26 de Noviembre del 2017.
- 15. Bé M et al. Monogrphie BIPM-5, Table of radionuclides. 2004; 2: 110.
- 16. Ellison SLR y Williams A (Eds). EURACHEM/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third edition. 2012.
- 17. Oropesa et al. Activímetros. En: Protocolo para el asegurameinto de la calidad de las mediciones. Proyecto ARCAL RLA 6074. 2015.
- 18. International Organization for Standardization. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. ISO 13528, pag. 29.
- 19. Bé M et al. Monogrphie BIPM-5, Table of radionuclides. 2004; 1: 27-32.
- 20. Nevares N, Crudo J. Marcación de DOTA-LAN con Lu-177 de media actividad específica. Un agente potencial para PRRT de tumores neuroendócrinos. Poster. XXIII Jornadas Nacionales de Oncología del Instituto "Angel H. Roffo". Buenos Aires, Argentina, 28-31 de Agosto de 2007.
- 21. Zaknun J et al. The joint IAEA, EANM, and SNMMI practical guidance on peptide receptor radionuclide therapy (PRRNT) in neuroendocrine tumours. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2013; 40(5): 800–816.
- 22. Asti M et al. Influence of cations on the complexation yield of DOTATATE with yttrium and lutetium: a perspective study for enhancing the 90Y and 177Lu labeling conditions. Nucl Med Biol. 2012; 39(4): 509-17.
- 23. International Atomic Energy Agency. Comparative evaluations of therapeutic radiopharmaceuticals. IAEA Technical report series 458. 2007: 163-168.
- 24. Crudo J et al. Obtención de 177Lu-DOTA-TA-TE a partir de 177LuCl3 de alta AE de producción experimental en Argentina. Poster. XXV ALASBIMN Congress, Punta del Este, Uruguay, 18-21 November, 2015.