

Radiofármacos de galio 68

José Morín Zorrilla, Jorge Cruz Arencibia

Centro de Isótopos. Ave. Monumental y Carretera La Rada, Guanabacoa. La Habana, Cuba
lmorin@centis.edu.cu

Resumen

La tomografía de emisión de positrones es una técnica de imagen médica de gran sensibilidad y resolución, que requiere radionúclidos emisores de positrones de corta vida. Los más comúnmente usados son el ^{18}F y el ^{11}C . La principal dificultad de estos radionúclidos es la necesidad de instalar un ciclotrón en el sitio de uso o a distancias no muy grandes de este, por lo que se han investigado radionúclidos más convenientes como el ^{68}Ga . Su disponibilidad a partir de los sistemas generadores de larga vida $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, de los que se obtiene ^{68}Ga , utilizable durante tiempo un prolongado en sitios alejados del ciclotrón y la rica química de coordinación del Ga^{3+} , han posibilitado la incorporación a la práctica médica de algunos radiofármacos, así como la investigación de una variedad de complejos estables de Ga^{3+} acoplados a biomoléculas para el diagnóstico por imágenes de cáncer y enfermedades de los sistemas cardiovascular y nervioso. El presente trabajo se orienta a examinar las potencialidades de la radiofarmacia del ^{68}Ga .

Palabras clave: galio 68, radiofármacos, tomografía computarizada con positrón, tratamiento de imágenes, generadores de radisótopos

Gallium radiopharmaceuticals 68

Abstract

The positron emission tomography is a technique of medical image of great sensibility and high resolution that requires short-lived positron emitting radionuclides. The most commonly used are ^{18}F and ^{11}C . The main difficulty of these radionuclides is the necessity to install a cyclotron in the site of use or not very far from it. Therefore convenient radionuclides have been researched, among them ^{68}Ga . The availability of this radionuclide from long-lived $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generators, which can be used for along time far from the cyclotron location, and the rich coordination chemistry of Ga^{3+} have allowed to incorporate to the medical practice some radiopharmaceuticals as well as the research of a variety of stables complexes of Ga^{3+} coupled to biomolecules for diagnostic imaging of cancer and cardiovascular and neurological diseases. The present work is aimed at examining the potentialities of the ^{68}Ga - radiopharmacy.

Key words: gallium 68, radiopharmaceuticals, positron computed tomography, image processing, radioisotope generators

Introducción

Los sistemas generadores de radionúclidos han caracterizado diferentes etapas de la radiofarmacia al asegurar la disponibilidad de radiofármacos en sitios alejados de los centros de producción de radionúclidos en reactores y ciclotrones. El generador de ^{113}Sn - $^{113\text{m}}\text{In}$ fue un hito importante en Medicina Nuclear con gammatopógrafos y cámaras gamma, luego el de ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ de mejores características, cuya importancia actual es apenas discutible en tomografía de emisión de fotón simple (SPECT). El ^{18}F y la ^{18}F -FDG, se convirtieron en instrumentos eficaces de la investigación diagnóstica funcional por imágenes en Medicina, al ser el principal medio de la tomografía de emisión de positrones (PET). La vida media del ^{18}F (109,8 min) ha limitado sin embargo su uso a distancias no demasiado alejadas del ciclotrón (hasta

unas 6 horas en carretera), lo que ha motivado la búsqueda de alternativas basadas en generadores, ya que los otros radionúclidos positrónicos de mayor interés ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O tienen vidas medias físicas aún más pequeñas (20, 10 y 2,7 min respectivamente). No obstante el impacto indiscutible de la ^{18}F -FDG [1], en cánceres muy diferenciados y de crecimiento lento como próstata, tumores neuroendocrinos, carcinoma hepatocelular, en la evaluación de lesiones dentro o en la proximidad de tejidos de alta actividad metabólica como cerebro, y en la distinción entre procesos malignos e inflamatorios, su uso no ha resultado igualmente efectivo. En la actualidad se desarrollan otros radiofármacos de ^{18}F y además se investigan otros radionúclidos positrónicos obtenidos a partir de generadores para complementar los estudios con ^{18}F -FDG [2]. El sistema generador de mayor interés es el ^{68}Ge - ^{68}Ga .

¿Por qué el ^{68}Ga ?

Las razones principales del esfuerzo investigativo con ^{68}Ga son las siguientes:

1. La gran variedad de quelatos mono y bifuncionales que forman complejos estables con $^{68}\text{Ga}^{3+}$ y se acoplan bien a biomoléculas.
2. Las favorables propiedades físico-nucleares: 89% de todas las desintegraciones como β^+ de E pequeña (1,9 MeV), lo que lo convierte después del ^{18}F en uno de los emisores positrónicos de menor pérdida de resolución interna como resultado de la aniquilación y que posea buenas características dosimétricas. Su T1/2 de 68 min hace que se ajuste a la farmacocinética de muchos péptidos y otras moléculas pequeñas [3].
3. La experiencia existente con radiofármacos de ^{67}Ga con SPECT. Perfeccionado en los últimos años, el generador de ^{68}Ge - ^{68}Ga se oferta por cuatro casas comerciales, dos de ellas bajo sistemas de buenas prácticas y con adecuadas características de explotación y propiedades del eluato. El de la firma Cyclotron Co de Obninsk, Rusia, indica las siguientes ventajas: material de llenado no tóxico, elución de Ga^{3+} con baja concentración ácida HCl 0,1 mol/L, 2 años de vida útil, un rendimiento de ^{68}Ga de 60% en 3-5 mL de eluato y fuga de ^{68}Ge entre 0,001 y 0,005 % [4]. Sin embargo, es frecuente que se apliquen procedimientos adicionales para aumentar la concentración radiactiva y disminuir el tenor de contaminantes, que pueden ser lo suficientemente elevados como para afectar los rendimientos de marcaje y las actividades específicas. Entre los principales se encuentran el Sn y el Ti procedentes de los óxidos más usados como adsorbentes en la columna, el Zn resultado de la desintegración de ^{68}Ga y el Fe como contaminante general. Para dar una idea de la magnitud de contaminantes, un generador de 1110 MBq (20 mCi) después de un día de eluido puede acumular $8,93 \cdot 10^{13}$ átomos de Zn o 10 ng y si se eluyen 800 MBq, representan 69×10^{12} átomos de ^{68}Ga o 3,2 ng de ^{68}Ga , o sea el contenido de Zn supera en 3 veces el de ^{68}Ga [5].

Quizás la dificultad actual mayor es obtener el radionúclido padre ^{68}Ge , principalmente por la reacción:



ya que se requiere irradiar varias semanas para un rendimiento de unos 500 mCi a energías de p de 50 MeV [6].

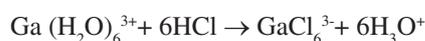
Química de coordinación del Ga

La química del galio, sobre todo la de coordinación, es bien conocida. La estructura electrónica $d^{10}s^2p^1$ de

este elemento del grupo IIIA, de la tabla periódica de Mendeleiev, favorece la formación de un ión en estado de oxidación +3 de radio pequeño, que se comporta en solución acuosa como ácido fuerte de Lewis (Pearson) [7] con elevada capacidad para formar complejos:



No obstante su relativa sencillez, la clasificación de Pearson aporta reglas prácticas de interés: los ácidos fuertes interactúan con las bases fuertes, considerándose bases fuertes el H_2O , OH^- , F^- , NH_3 , intermedias: Cl^- , $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}$ (piridina), N_3^- (azida) y débiles: Br^- , I^- , SH_2^- , $\text{CH}_3)_2\text{S}$, CN^- . Esto se puede ilustrar con uno de los procedimientos de purificación del eluato del generador de ^{68}Ga . El Ga^{3+} forma complejos con el ion Cl^- , en solución concentrada de HCl de acuerdo con la reacción:



Si se pasa la solución por una columna de intercambio aniónico los iones GaCl_6^{3-} son fijados y las impurezas catiónicas salen de la columna. Al lavar con agua, el complejo con ión cloruro es destruido, ya que el ión Cl^- es una base más débil que el agua. El $\text{Ga} (\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ se recoge en pequeño volumen, en buena medida, libre de impurezas.

El Ga^{3+} tiene números de coordinación 4, 5 y 6, siendo este último el más característico. Forma complejos de interés con bases como OH, N y O de alta estabilidad termodinámica [4].

Complejos de ^{68}Ga como radiofármacos

Los complejos de ^{68}Ga destinados a formulaciones radiofarmacéuticas deben tener suficiente estabilidad termodinámica e inercia cinética como para no interactuar con los componentes del plasma sanguíneo y llegar, sin sufrir transformaciones, al tejido blanco. Al pH del plasma el Ga^{3+} reacciona con el OH^- , dando lugar a productos de hidrólisis, incluida la formación de hidróxido insoluble, aunque estudios realizados a bajas concentraciones aseveran que a ese pH se encuentra en forma de complejos aniónicos tipo $\text{Ga} (\text{OH})_4^-$ [8]. Ha sido práctica usar ligandos como citrato y oxalato a pH bajo para evitar hidrólisis de Ga^{3+} y realizar entonces el marcaje por intercambio con ligandos con los que el ión forma complejos más estables [9]. También se debe evitar el intercambio con transferrina, proteína transportadora de Fe^{3+} en el organismo, de elevada concentración en sangre y con sitios libres con alta afinidad, también por el Ga^{3+} [10]. En la tabla 1 se dan las constantes de estabilidad KL y la concentración libre de Ga^{3+} de complejos con diferentes ligandos, entre ellos la transferrina a la que se enlaza por dos sitios diferentes [11, p 366]. Se aprecia que las constantes tienen valores que satisfacen los requerimientos de marcaje. En el caso de DOTA (1,4,7,10

tetraazociclododecano-1,4,7,10 ácido acético) forma complejos estables octaédricos con radiometales en el estado de oxidación 3⁺, y su estructura cíclica le da mayor inercia cinética *in vivo* en comparación con ligandos acíclicos de comparable estabilidad termodinámica [12], lo que explica su difundido uso.

Tabla1. Constantes de estabilidad de Ga³⁺ con diferentes ligandos

Ligando	pM	Log KL
DTPA	22,8	23,3
EDTA	21,7	21,7
DOTA	-	21,33
TF(K1)	21,3	20,3
TF(K2)	20,3	19,3

TF - transferrina.

Con el propósito de ilustrar las posibilidades de los complejos de Ga³⁺ como base de la formulación se consideran algunos ejemplos:

Complejos positivos para perfusión miocárdica

Estudios realizados con ⁸²Rb (obtenido en generador) y ¹⁵N indican las potencialidades del PET/CT para el manejo de la aterosclerosis coronaria, incluso la detección no invasiva de placa vulnerable [13]. Los radiofármacos de ⁶⁸Ga pueden mejorar la resolución y cuantificación de los cambios en las mediciones de perfusión miocárdica regional, en particular los Ga -bisaminobistiolatos con un núcleo quelante N₂S₂ incorporado a 3 anillos ciclohexanos para favorecer lipofilicidad. El complejo tiene una carga positiva y estudios realizados con ⁶⁷Ga indican excelente captación y relativamente alta retención en corazón [14]. Se han investigado también algunas Ga bis salicilaldiminas (BAPEN), llegando a la formulación de un kit para marcaje con ⁶⁸Ga para ensayo en animales y uso humano estable a 4 °C durante más de 5 años con alta captación en corazón y rápida excreción por el tracto hepatobiliar [15].

Hipoxia

Un compuesto de DOTA ha sido marcado con ⁶⁷Ga para identificar hipoxia, basado en estudios cristalográficos que revelan una estructura heptacoordinada (en lugar de la octa más común) de los complejos de Ga³⁺-DOTA, con los 4 N del anillo cicleno y dos O de los brazos carboxílicos opuestos coordinados al metal, de lo que se deduce que dos carboxilatos libres del complejo radiogalio-DOTA se pueden utilizar para acoplarlos a estructuras que reconocen dianas moleculares para imagen *in vivo* sin que se reduzca la estabilidad del complejo. Los autores en efecto sintetizan el 2,2'-[4,10-bis(2-{[2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]amino}-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazociclododecano-1,7-diil]

ácido diacético, que contiene el esqueleto de metronidazol, capaz de reconocer sitios con disminución del tenor de oxígeno (DOTA-MN2) [16]. Se realiza el marcaje de la molécula con ⁶⁷Ga y se estudia la biodistribución en ratones portadores de un tumor con significativa acumulación en este, rápido aclaramiento sanguíneo y baja acumulación en tejido no diana [16]. Estos resultados ofrecen información valiosa para el desarrollo de radiofármacos marcados con Ga, tanto para SPECT (⁶⁷Ga) como PET (⁶⁸Ga).

Radiopéptidos

La somatostatina (SST) ha servido de modelo para el desarrollo de radiofármacos, ya que sus 5 subtipos de receptores (RSST1-5) están sobreexpresados en tumores neuroendocrinos, meningioma, cáncer de mama, linfoma, carcinoma de células renales y tienen además elevada afinidad por las dos formas de la biomolécula, de 14 y 28 residuos aminoácidos respectivamente [17]. La escasa vida media del péptido en el organismo (< 2 min) ha motivado la investigación de sus análogos como el [In-DTPA-D-Phe1]-octreotido D-Phe-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr(ol), útil en diagnóstico de tumores carcinoides, paragangliomas, cáncer medular de tiroides, feocromocitoma, gastrinomas y adenoma de la pituitaria anterior. Análogos con DOTA han resultado de mayor estabilidad termodinámica y cinética, evidenciándose que la estructura química, las cargas y la hidrofobicidad de los trazadores de DOTA-SST, y la geometría de coordinación del complejo metálico tienen gran influencia en los perfiles de afinidad de los SSTR [17].

El ⁶⁸Ga-DOTATOC puede identificar todas las lesiones en tumores carcinoides, mientras el ¹¹¹In octeotrido revela solo el 85% [18]. En una serie de 84 pacientes con tumores neuroendocrinos conocidos o sospechados el ⁶⁸Ga-DOTATOC tiene 97% de sensibilidad, 92% de especificidad y una exactitud general de 96% [19].

Un solo grupo reporta a inicios del 2009 más de 2300 casos de cintigrafía de receptores de SST con ⁶⁸Ga con la selección también de pacientes para terapia radionuclídica [20].

Además de SST, se han utilizado otros péptidos, como bombesina, análogos de la hormona estimulante de melanocitos y acMo. Los resultados indican el gran potencial de los radiopéptidos de ⁶⁸Ga [17]. Un área de gran interés actual es la investigación de los procesos angiogénicos asociados al cáncer y otras patologías en el que el receptor de la vitronectina $\alpha v \beta 3$ juega un importante papel. Estudios *in vitro*: coeficientes de partición, estabilidad metabólica, fijación a proteínas, afinidad por el receptor y captación celular e *in vivo*: biodistribución e imagen microPET en modelos de melanoma humano positivos y negativos a $\alpha v \beta 3$, indican las potencialidades del ¹⁸F-Galacto-RGD (péptidos con la secuencia tripeptídica Arginina-glicina-asparraguina, RGD) y se exponen resultados con ⁶⁸Ga DOTA-RGD, cuya comparación con ¹¹¹In DOTA-RGD se muestra en la tabla 2 [21].

Tabla 2. Propiedades *in vitro* de derivados de RGD

Compuesto	log P	Resistencia a proteinasas	Fijación a proteínas
¹⁸ F Galactoso-RGD	- 3,2	Elevada	Baja
¹¹¹ In DOTA-RGD	- 4,3	95 %	Baja
⁶⁸ Ga DOTA-RGD	- 3,9	99%	Elevada

Log de P coeficiente de partición

De acuerdo con los datos de la tabla 2 en el que se incorpora un compuesto de ¹⁸F usado ya en ensayos clínicos [22], se aprecian las buenas características del derivado de ⁶⁸Ga, en relación con hidrofiliidad y resistencia a proteinasas, no así la fijación a proteínas. La conducta diferente de ¹¹¹In y ⁶⁸Ga puede estar relacionada con la correlación entre la estabilidad del quelato y el enlace a transferrina, principal proteína plasmática transportadora de Fe³⁺ y otros iones trivalentes. De acuerdo con los valores reportados el In tiene mayor estabilidad con DOTA y menor con transferrina que el Ga³⁺. Las constantes se muestran en la tabla 3 [11, p 366, 375, 376]. Los equilibrios probables involucrados son los siguientes:

**Tabla 3.** Constantes de estabilidad de In³⁺ y Ga³⁺ con DOTA y transferrina (TF)

Ion	DOTA (Log K)	TF (log K)
In ³⁺	23,90	K1 18,3 K2 16,44
Ga ³⁺	21,33	K1 19,75 K2 18,8

Es presumible que la utilización de otros ligandos favorezca la estabilidad del complejo, disminuyendo el enlace a proteínas. Se ha reportado que log KGa-NOTA = 30,98, es decir unos 10 órdenes superior a Log KGa-DOTA = 21,33 y que presenta también alta estabilidad cinética [23], por lo que cabe esperar que el complejo Ga-NOTA-RGD tenga mejores características que el Ga- DOTA-RGD como marcador de angiogénesis.

Resultados de CENTIS

En CENTIS se ha desarrollado un prototipo de generador de ⁶⁸Ga de 300 µCi sobre soporte de alúmina, que se eluye con 3 mL de HCl 0,1 mol/L a un flujo de 0,5 mL/min. La concentración de Al está por debajo de 5 ppm. Por modelación se estima que un generador de 20 mCi debe tener un rendimiento del 83% con una concentración radiactiva de 5,5 mCi/mL en un tiempo de 6 min. Se realizaron el marcaje de EDTMP y de fosfato de cromo (III) de interés en cintigrafía de huesos y sinovitis crónica.

Conclusiones

La radiofarmacia del ⁶⁸Ga experimenta intenso desarrollo y se espera que brinde opciones prácticas complementarias a las de ¹⁸F y otros radionúclidos positrónicos.

Referencias bibliográficas

- BUCK AK, HERRMANN K, STARGARDT T, et. al. Economic Evaluation of PET and PET/CT in Oncology: Evidence and Methodologic Approaches. J. Nucl. Med. Technol. 2010; 38: 6-17 doi: 10.2967/jnmt.108.059584.
- BAUMAN G, BELHOCINE T, KOVACS M, et. al. 18F-fluorocholine for prostate cancer imaging: a systematic review of the literature. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2012; 15(1): 45-55. doi: 10.1038/pcan.2011.35.
- PAGANI M, STONE-ELANDER S, LARSSON SA. Alternative positron emission tomography with non-conventional positron emitters: effects on their physical properties on image quality and potential clinical applications. Eur. J. Nuc. Med. 1997; 24 (10): 1301-1327.
- BARTHOLOMÄ MD, LOUIE AS, VALLIANT JF, ZUBIETA J. Technetium and Gallium derived radiopharmaceuticals: Comparing and contrasting the chemistry of two important radiometals for the molecular imaging era. Chem.Rev. 2010; 110(5): 2903-2920.
- ZHERNOSEKOV KP, FILOSOFOV DV, BAUM RP, et. al. Processing of generator-produced ⁶⁸Ga for medical application. J Nucl Med. 2007; 48: 1741-1748.
- International Atomic Energy Agency. Cyclotron Produced Radionuclides: Physical Characteristics and Production Methods. Technical Report Series No 468. Vienna: IAEA, 2009.
- http://www2.chemistry.msu.edu/courses/CEM812/Hard_SoftAcid_Base.pdf
- JACKSON GE, BYRNE MJ. Metal Ion Speciation in Blood Plasma: Gallium-67-Citrate and MRJ Contrast Agent. J Nucl. Med. 1996; 37: 379-386.
- ANDERSON CJ, WELCH MJ. Radiometal-Labeled Agents (Non-Technetium) for Diagnostic Imaging. Chem. Rev. 1999, 99: 2219-2234.
- BERNSTEIN L. Mechanisms of Therapeutic Activity for Gallium. Pharmacological reviews. 1998; 50(4): 665-682.
- WELCH MJ, REDVANLY CS. Handbook of Radiopharmaceuticals, Radiochemistry and Applications. Chichester: John Miley & Sons Ltd, 2003.
- WADAS TJ, WONG EH, WEISMAN GR, ANDERSON CJ. Coordinating Radiometals of Copper, Gallium, Indium, Yttrium, and Zirconium for PET and SPECT Imaging of Disease. Chem. Rev. 2010; 110: 2858-2902.
- DI CARLI MF, DORBALA S. Cardiac PET-CT. J Thorac Imaging. 2007; 22: 101-106.
- PLÖSSLA K, CHANDRAA R, QUA W, et. al. A novel gallium bisaminothiolate complex as a myocardial perfusion imaging agent. Nucl. Med. and Biology. 2008; 35(1): 83-90.
- HSIAO YM, MATHIAS CJ, WEY SP, et. al. Synthesis and biodistribution of lipophilic and monocationic gallium radiopharmaceuticals derived from N,N'-bis(3-aminopropyl)-N,N'-dimethylethylenediamine: potential agents for PET myocardial imaging with ⁶⁸Ga. Nucl. Med. Biol. 2009; 36(1): 39-45.

16. TAKAHIRO M, JUN S, KOHEI S, et. al. Design of Ga-DOTA-based bifunctional radiopharmaceuticals: Two functional moieties can be conjugated to radiogallium-DOTA without reducing the complex stability. *Bioorg. Med. Chem.* 2009; 17: 4285-4289.
17. TAN EH, GOH SW. Exploring new frontiers in molecular imaging: Emergence of 68Ga PET/CT. *World J Radiol.* 2010; 28(2): 55-67.
18. HOFMANN M, MAECKE H, BORNER A, et. al. Biokinetics and imaging with the somatostatin receptor PET radioligand 68Ga-DOTATOC: preliminary data. *Eur J Nucl. Med.* 2001; 28(12): 1751-1757.
19. GABRIEL M, DECRISTOFORO C, KENDLER D, et. al. 68Ga-DOTA-Tyr3-Octreotide PET in Neuroendocrine Tumors: Comparison with Somatostatin Receptor Scintigraphy and CT. *J Nucl Med.* 2007; 48: 508-518.
20. BAUM R. Ga-68 Labelled Radiopharmaceuticals for Molecular Imaging of Cancer Using PET/CT - Present State and Future Perspectives. [documento en línea]. http://www.singaporeradiology2010.com/programme_detailed.pdf
21. DECRISTOFORO C, HERNÁNDEZ I, CARLSEN J, et. al. 68Ga- and 111In-labelled DOTA-RGD peptides for imaging of integrin expression. *Eur J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2008; 35: 1507-1515.
22. HAUBNER R, WESTER HJ, WEBER WA, et. al. Noninvasive imaging of $\alpha\beta3$ integrin expression using 18F-labeled RGD-containing glycopeptide and positron emission tomography. *Cancer Res.* 2001; 61:1781-1785.
23. VELIKYAN I. Synthesis, Characterization and Application of 68Ga-labelled Peptides and Oligonucleotides [Thesis for the filosofie licentiate degree]. Department of Organic Chemistry, Institute of Chemistry, Uppsala University. January 2004.
24. LI Z, CONTI PS. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. *Advanced drug delivery reviews.* 2010; 62(11): 1031-1051.

Recibido: 29 de mayo de 2012

Aceptado: 4 de junio de 2012