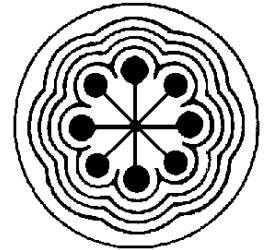




UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO



INSTITUTO NACIONAL DE
INVESTIGACIONES NUCLEARES

ININ

FACULTAD DE MEDICINA

Cálculo dosimétrico del ^{177}Lu -iPSMA y ^{225}Ac -iPSMA
a nivel celular en un modelo de metástasis ósea

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN FÍSICA MÉDICA

P R E S E N T A

Miguel Angel Nava Cabrera

Comité de Tutores: Dra. Erika Patricia Azorín Vega
Dra. Liliana Aranda Lara
Dr. Rigoberto Oros Pantoja



TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

2020



El presente trabajo se desarrolló en la Gerencia de Aplicaciones Nucleares en la Salud (Departamento de Materiales Radiactivos) con el apoyo del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (Proyecto SEP-CB2014-01-242443)

Esta investigación se realizó como parte de las actividades del Laboratorio Nacional de Investigación y Desarrollo de Radiofármacos LANIDER-CONACyT bajo la dirección académica de la Dra. en C. Erika Patricia Azorín Vega y la Dra. en C. Guillermina Ferro.

Índice

Resumen	8
Abstract	10
Abreviaturas	12
Índice de figuras	14
Índice de tablas	16
Capítulo 1	17
1.1 Introducción.....	18
Capítulo 2.....	19
2.1 Antecedentes	20
2.2 Pregunta de investigación.....	24
2.3 Hipótesis	24
2.4 Objetivo general.....	24
2.4.1 Objetivos específicos	24
Capítulo 3.....	25
3.1 Dosimetría de la radiación ionizante	26
3.1.1 <i>La radiactividad de los átomos</i>	26
3.1.2 Radionúclidos ^{177}Lu y ^{225}Ac	31
3.1.3 Detectores de radiación	33
3.2 El cáncer de próstata	35
3.2.1 Antígeno Prostático Específico de Membrana (PSMA)	36
3.2.2 Los radiofármacos.....	36
3.2.3 Modelos de metástasis óseas	40
3.3 Dosimetría celular	41
Capítulo 4.....	45

4.1 Obtención y preparación del ^{177}Lu -iPSMA.....	46
4.1.1 Evaluación de la pureza radioquímica.....	46
4.2 Obtención y preparación del ^{225}Ac -iPSMA.....	46
4.3 Cultivo celular	47
4.4 Modelo de inoculación intraóseo de metástasis ósea.....	47
4.4.1 Histopatología de las muestras	48
4.5 Fracción de actividad depositada en cada compartimiento celular	51
4.6 Modelo biocinético	52
4.7 Simulación Monte Carlo.....	53
4.8 Cálculo de la dosis absorbida	54
4.9 Biodistribución de los radiofármacos	55
4.9.1 Verificación de la estabilidad del ^{225}Ac -iPSMA.....	56
4.10 MIRDcell	57
Capítulo 5.....	58
5.1 Modelo intraóseo de metástasis ósea.....	59
5.2 Verificación de la estabilidad del ^{225}Ac -iPSMA	60
5.3 Modelos biocinéticos	63
5.4 Dosis absorbida	65
5.5 MIRDcell	68
Capítulo 6.....	71
6.1 Conclusiones	72
6.2 Trabajo a futuro	73
Referencias bibliográficas	74
ANEXOS	81
Anexo 1: Acta de congreso.....	81

Anexo 2: Artículo	
Anexo 3: Incertidumbres	82

Resumen

Las metástasis óseas derivadas de cáncer de próstata, además de su gran incidencia, generan gran cantidad de sintomatología adversa. El tratamiento mediante radiofármacos de tercera generación como ^{177}Lu -iPSMA, ha permitido una mayor expectativa de vida. No obstante, la remisión completa sigue siendo deficiente y en algunos casos la enfermedad progresa a pesar de varios ciclos de terapia. Como alternativa, se comenzó a utilizar el $^{223}\text{RaCl}_2$, un emisor α con capacidad para eliminar metástasis, pero con la desventaja de generar toxicidad en otros tejidos. Recientemente, se sugirió emplear inhibidores de PSMA marcados con el emisor α ^{225}Ac , los cuales han mostrado alto potencial para destruir células tumorales de manera selectiva, minimizando el daño a tejidos y órganos sanos. En trabajos previos se ha mostrado clínicamente la eficiencia de estos radiofármacos para tratar metástasis óseas, pero no se ha realizado la dosimetría a nivel celular. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue calcular la dosis absorbida de ^{177}Lu -iPSMA y ^{225}Ac -iPSMA en un modelo de metástasis ósea y comparar la eficiencia entre ambos mediante la razón de dosis entregada al tumor por cada uno. La metástasis intraósea, se indujo en ratones macho CD1 de ocho semanas de edad, mediante la inoculación de células LNCaP a través de la articulación femurotibial. La metástasis se desarrolló en seis semanas. Los huesos con presencia de metástasis fueron extraídos y analizados mediante cortes histológicos. La fracción de actividad depositada por los radiofármacos ^{177}Lu -iPSMA y ^{225}Ac -iPSMA en el núcleo de las células metastásicas se determinó con el kit de extracción nuclear (2900, Merck Millipore, USA), el cual permitió separar los compartimentos celulares para poder medir la actividad en cada uno de éstos. Los factores de dosis de ambos radionúclidos para calcular la dosis absorbida en el núcleo de las células, se determinaron con el código MCNPX5. Posteriormente, se evaluó la biodistribución de ambos radiofármacos en 5 tiempos distintos: el tiempo cero (después de la administración del radiofármaco), 4, 48, 96 y 192 horas. Con los datos de la biodistribución y con ayuda del software OLINDA se obtuvieron los modelos biocinéticos de ambos radiofármacos y con éstos se logró determinar el número de desintegraciones en unidades de MBq. Con la información obtenida se calculó la dosis absorbida en el núcleo de las células metastásicas de

cáncer de próstata debida a ambos radiofármacos y se comparó la eficiencia de ambos a partir de este valor. Se obtuvo que para el tumor la razón de dosis entre el ^{225}Ac -iPSMA y el ^{177}Lu -iPSMA fue aproximadamente de 5, siendo de 2.3 Gy para el primero y de 0.5 Gy para el segundo, ambos por unidad de MBq inyectado.

Abstract

It is known that people, who have bone metastasis as a result of an advanced primary prostate cancer, feel a lot of pain. This cancer has been treated using third-generation radiopharmaceuticals, for example ^{177}Lu -iPSMA, obtaining a greater survival increment. Nevertheless, this radiopharmaceutical has not been useful to treat these metastases as it has been with the prostate primary cancer. As a result, the ^{223}Ra , an alpha emitter with great capability to kill cells, has been implemented, generating toxicity in other tissues though. Hence, a new radiopharmaceutical with the previous two advantages has been suggested to be used. The ^{225}Ac -iPSMA is an alpha emitter with great selective cell-killing capability, generating very little damage to healthy tissues. This radiopharmaceutical has been previously used in hospitals, but a dose calculus has never been done. Therefore, in the present work the absorbed dose in bone metastasis cell, from advanced prostate cancer, has been calculated. The bone metastases were induced in 8 years-old CD1 mice, which was adjusted into two groups: The first one was the control group and the second one was the ones that were inoculated with bone metastasis and treated with ^{177}Lu -iPSMA and ^{225}Ac -iPSMA. The bone metastases model was intraosseous, in which mice were inoculated with 5 μl of LNCaP cancerous cells in the femorotibial joint and the metastases grew for a period of 6 weeks. New bones with metastasis were analyzed using histology.

The fraction of deposited energy by the radiopharmaceuticals ^{177}Lu -iPSMA and ^{225}Ac -iPSMA in tumoral cells was calculated based on the results of the 2900-sustraction kit from Millipore Corp, which allowed to divide each cell compartment in order to tallie the activity in these. The dose factors from the cellular nucleus were obtained using an MCNPX5 simulation. The radiopharmaceutical biodistribution was evaluated for the ^{177}Lu -iPSMA and ^{225}Ac -iPSMA and the number of nucleus decay was obtained for 5 biodistribution times for both of them, which were: after the radiopharmaceutical administration (time zero), 4, 48, 96 and 192 hours. The LINDA software allowed to obtain the biocinetic model for both radiopharmaceuticals and the total decay number in MBqh units.

Finally, the absorbed dose in the prostate cell nucleus were calculated for both of these radiopharmaceuticals and the efficiency of both of these was compared. The dose of

the ^{225}Ac -iPSMA was 5 times greater than the ^{177}Lu -iPSMA, which in the first case was 2.3 Gy and 0.5 Gy for the second one, per MBq administered.

Abreviaturas

mCRPC	Cáncer de próstata metastásico resistente a la castración
PSMA	Antígeno Prostático Específico de Membrana
PSA	Antígeno Prostático Específico
iPSMA	Inhibidor del PSMA
LET	Transferencia Lineal de Energía
Lu	Lutecio
Ra	Radio
Ac	Actinio
He	Helio
Rn	Radón
Ga	Galio
ADN	Acido Desoxirribonucleico
CsSb	Antimonio de Cesio
Nal (TI)	Yoduro de Sodio dopado con Talio
Yb	Iterbio
Th	Thorio
LNCaP	Línea celular inmortalizada derivada de un adenocarcinoma de próstata humano dependiente de andrógenos
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
RBE	Eficiencia Biológica Relativa
RGD	Tripéptido Arginina-Glicina-Ácido Aspártico
Tc	Tecnecio
OMS	Organización Mundial para la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
CT	Tomografía Computarizada
PET	Tomografía por Emisión de Positrones
PMOD	Partículas de Matriz Ósea Desmineralizada
MIRD	Dosis Médica de Radiación Interna

Índice de figuras

<i>Figura 1: Espectros β negativo y β positivo, adaptado de (21).</i>	29
<i>Figura 2: Esquema de decaimiento del ^{177}Lu (23).</i>	31
<i>Figura 3: Esquema de decaimiento de ^{225}Ac (25).</i>	33
<i>Figura 4: Estructura de un tubo fotomultiplicador, adaptado de (27).</i>	34
<i>Figura 5: Estructura química del ^{177}Lu-iPSMA, la región encerrada corresponde al iPSMA (6).</i>	39
<i>Figura 6: Solución de ^{225}Ac</i>	47
<i>Figura 7: Incisión intramedular, a través de la articulación femurotibial del ratón</i>	47
<i>Figura 8: Equipo Xtreme utilizado para toma de imágenes.</i>	48
<i>Figura 9: Procedimiento de deshidratación de las muestras</i>	49
<i>Figura 10: En la izquierda equipo utilizado para colocar las muestras en parafina, en el centro las muestras de hueso en parafina, en la derecha el microtomo y la estufa de calentamiento</i>	50
<i>Figura 11: Procedimiento de hidratación y tinción de las muestras.</i>	51
<i>Figura 12: Reactivos utilizados para fijación en resina.</i>	51
<i>Figura 13: Microambiente óseo diseñado por MCNPX 5</i>	54
<i>Figura 14: En la izquierda el contador de pozo, en la derecha el equipo Auto-in Vtron 4010</i>	56
<i>Figura 15: A la izquierda se muestra el ratón 2 semanas después de la inoculación, a la derecha se muestra el mismo a las 4 semanas, el punto rojo representa la mayor captación del radiofármaco ^{99m}Tc-RGD.</i>	59
<i>Figura 16: Corte de hueso con metástasis ósea obtenida con un aumento de 400x, donde se observa la matriz ósea (1) junto con osteocitos (3) y células tumorales (4). El hueso fue teñido con hematoxilina y eosina.</i>	59
<i>Figura 17: Tumor óseo en un ratón CD1 macho</i>	60
<i>Figura 18: Órganos extraídos del tercer ratón a la izquierda, su imagen radionuclídica a la derecha.</i>	60
<i>Figura 19: Captación del radiofármaco ^{225}Ac-iPSMA por las metástasis óseas. Imagen radionuclídica de las extremidades del ratón a las 96hrs posteriores a la</i>	

<i>administración del radiofármaco. La pata izquierda es aquella que presenta el tumor, mientras que la pata derecha está sana.</i>	<i>61</i>
<i>Figura 20: Colonia celular irradiada con ^{225}Ac, en una región de 30 μm, con 80% de las células radiomarcadas.....</i>	<i>68</i>
<i>Figura 21: Colonia celular irradiada con ^{225}Ac, en una región de 100 μm, con 80% de las células radiomarcadas.....</i>	<i>69</i>
<i>Figura 22: Colonia celular irradiada con ^{225}Ac, en una región de 40 μm, con 40% de las células radiomarcadas.....</i>	<i>69</i>
<i>Figura 23: Colonia celular irradiada con ^{177}Lu, en una región de 80 μm, con 80% de las células radiomarcadas.....</i>	<i>70</i>

Índice de tablas

<i>Tabla 1: Porcentaje de dosis por órgano (MBq/h), en función de los cinco tiempos de biodistribución</i>	<i>63</i>
<i>Tabla 2: Constantes de los modelos biológicos de los órganos</i>	<i>64</i>
<i>Tabla 3: Número de desintegraciones de los radiofármacos ¹⁷⁷Lu-iPSMA y ²²⁵Ac-iPSMA en cada órgano</i>	<i>64</i>
<i>Tabla 4: Factores de dosis del ²²⁵Ac, con unidades de mSv/MBqs.....</i>	<i>66</i>
<i>Tabla 5: Factores de dosis del ¹⁷⁷Lu, con unidades de mSv/MBqs.....</i>	<i>66</i>
<i>Tabla 6: Dosis absorbida en los órganos, debida al ¹⁷⁷Lu-iPSMA y al ²²⁵Ac-iPSMA.</i>	<i>67</i>
<i>Tabla 1.1: Porcentaje de dosis por órgano (MBq/h), en función de los cinco tiempos de biodistribución, incluyendo sus incertidumbres</i>	<i>82</i>
<i>Tabla 6.1: Dosis absorbida en los órganos, debida al ¹⁷⁷Lu-iPSMA y al ²²⁵Ac-iPSMA, con sus incertidumbres</i>	<i>82</i>

Capítulo 1

Introducción

1.1 Introducción

Las metástasis óseas en etapas avanzadas de cáncer de próstata (PCa) son una fuente importante de morbilidad y mortalidad. Diferentes estrategias terapéuticas y/o paliativas se han empleado para mejorar la calidad de vida del paciente (1). Entre estas terapias se encuentra el uso del $^{223}\text{RaCl}_2$, el cual es un emisor alfa (α , E_{max} de 5.7 MeV) aprobado para uso humano (2). Sin embargo, el $^{223}\text{RaCl}_2$ tiene la desventaja de generar alta toxicidad en tejidos sanos (2). Actualmente, la terapia dirigida con radionúclidos emisores β y α se reconoce como una alternativa terapéutica para varios tipos de cáncer inoperables o metastásicos (3) (4). Los inhibidores de PSMA son ligandos de bajo peso molecular que son empleados para reconocer al antígeno prostático específico de membrana (PSMA), el cual se sobreexpresa en el cáncer de próstata. Este ligando se ha utilizado en combinación con el ^{177}Lu , un radiolantánido emisor de partículas β , cuyos estudios clínicos han mostrado un aumento del 70% en la supervivencia de pacientes con cáncer de próstata metastásico avanzado. No obstante, la remisión completa sigue siendo limitada (5) y en algunos casos, aunque es efectivo para el tratamiento de las lesiones viscerales, produce la exacerbación de las lesiones óseas (6). Recientemente, se sugirió emplear inhibidores de PSMA marcados con el emisor α ^{225}Ac , los cuales han mostrado clínicamente alto potencial para destruir metástasis óseas con un mínimo de daño a tejidos y órganos sanos.

La dosimetría interna para tumores y órganos críticos, es fundamental para la planificación de tratamientos y predicción de resultados terapéuticos en pacientes sometidos a terapia con radionúclidos. Sin embargo, la dosis absorbida en células individuales es más significativa, sobre todo cuando el radionúclido se concentra en el interior de las células tumorales y emite partículas cargadas con un alcance comparable a las dimensiones de las células y/o metástasis pequeñas. Se han realizado varios estudios para evaluar la terapia con radionúclidos a nivel celular utilizando Simulación Monte Carlo (7). Sin embargo, no se han reportado cálculos dosimétricos en células de cáncer de próstata metastásicas utilizando ^{225}Ac -iPSMA.

Capítulo 2

Estado del arte

2.1 Antecedentes

El cáncer es un término empleado para referirse a un conjunto de enfermedades relacionadas, donde las células de un organismo adquieren la capacidad de dividirse de manera descontrolada. Esta proliferación celular conduce a la formación de masas tumorales y bajo ciertas condiciones, pueden adquirir la capacidad de migrar de su lugar de origen para invadir otros tejidos u órganos. A este proceso se le denomina metástasis (8). Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) el cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo y metástasis la principal causa de muerte por éste (9).

En México el cáncer es la tercera causa de muerte, siendo el de mama, próstata, cervicouterino, colorrectal y de pulmón los más prevalentes. Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en el 2015 en México, por cada 100 mil habitantes, el cáncer de próstata causó la muerte de 13 hombres y el cáncer de mama provocó la muerte de 11 mujeres (10).

Desde el punto de vista terapéutico, los pacientes con cáncer requieren de la combinación de distintas intervenciones como son: la extirpación quirúrgica, quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia y la terapia dirigida. En particular, la terapia dirigida utiliza moléculas biológicas con reconocimiento específico que pueden adherirse a las proteínas blanco sobreexpresadas en las células de cáncer, y de esta manera eliminar la masa tumoral minimizando el daño a los tejidos adyacentes (8). Además, la gran mayoría de los tumores sólidos, así como sus metástasis requieren la formación de nuevos vasos sanguíneos que permitan a éstos crecer más de 2 mm de diámetro (11).

En la actualidad, existe una necesidad de tratamientos que permitan controlar las metástasis surgidas a partir del cáncer de próstata resistente a la castración (mCRPC) debido a la gran mortalidad que genera, por lo que en los últimos años se han diseñado distintos radiofármacos, los cuales usan biomoléculas marcadas con emisores β y α para mejorar el tratamiento dirigido, y disminuir efectos colaterales (12). Uno de los radionúclidos emisores β utilizados para tratar estas metástasis es el ^{177}Lu .

Uno de los radiofármacos utilizados con éxito para tratar mCRPC es el ^{177}Lu -PSMA-617, el cual fue utilizado en 2015 por Haberkorn & colegas (13) , donde se trataron 30

pacientes con mCRPC avanzado, o con contraindicaciones a tomar cualquier otro tipo de terapia. Los pacientes habían recibido tratamientos hormonales, también habían tomado docetaxel e incluso seis pacientes habían sido tratados con ^{223}Ra . Antes de recibir el tratamiento propuesto se obtuvieron imágenes de todos los pacientes con ayuda de equipos de tomografía computarizada acoplados a tomografía por emisión de positrones (PET/CT), habiendo sido previamente inyectados con ^{68}Ga -PSMA-11. Los autores comentaron que, ocho semanas después de iniciado el tratamiento, 21 de los 30 pacientes mostraron cambios en los niveles de PSA, de los cuales 13 tuvieron un detrimento $>50\%$, en tanto que ocho pacientes mostraron un aumento en su nivel de PSA. Se observó también mediante imágenes de tomografía computarizada (CT) que aquellos pacientes con metástasis, en los nódulos linfáticos mejoraron, aunque desarrollaron anemia y leucopenia. El tratamiento utilizado mostró buenos resultados, debido a que ningún paciente tuvo que terminar el tratamiento debido a que su condición general empeorase, ni tampoco se observó una variación en su peso corporal y no requirieron tomar analgésicos para el dolor. Respecto a la toxicidad, seis pacientes desarrollaron anemia grado 1 y cuatro, pacientes mostraron trombocitopenia grado 1, y sólo dos pacientes mostraron xerostomía.

Por su parte, en 2018 Santos & colegas (6) reportaron la síntesis, preparación y estudios preclínicos del ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA. En este estudio se inyectaron 3.7 o 7.4 GBq del radiofármaco en hasta 4 ciclos cada 8-10 semanas, la actividad administrada dependió del volumen del tumor a tratar. La respuesta de los pacientes al radiofármaco se evaluó por medio de imágenes de PET/CT, utilizando ^{68}Ga -PSMA-11, y por imágenes por tomografía por emisión de fotón único acoplada a tomografía computarizada (SPECT/CT), utilizando $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -iPSMA. En el caso de los pacientes sanos no se observaron reacciones adversas, mientras que en algunos pacientes con cáncer se observó xerostomía reversible. Los autores mencionaron que las metástasis óseas respondieron menos al tratamiento con ^{177}Lu -iPSMA, respecto a los tumores en los ganglios linfáticos y regiones viscerales.

En 2012, Parker & colegas (14) reportaron la aplicación de $^{223}\text{RaCl}_2$ en 122 pacientes con mCRPC que habían tomado terapias de ablación a andrógenos, pero que no habían sido tratados con quimioterapia, radioterapia o algún otro tipo de droga. Los

pacientes recibieron tres tratamientos de 25-80 kBq/kg cada 6 semanas observando que a mayor número de dosis había una mayor reducción en los niveles de PSA y un mejor control de las lesiones tumorales. En la mayoría de pacientes los efectos adversos fueron diarrea, náuseas y anemia. Sólo cuatro de ellos presentaron dolor óseo, debilidad muscular y constipación.

Además del ^{223}Ra , otros autores han propuesto el uso de otros emisores α para el tratamiento de las metástasis óseas derivadas del mCRPC. Nonnekens & colegas (15) reportaron en el 2017 el uso del ^{213}Bi acoplado a dos trazadores del PSMA, el I&T y el JVZ-008, para tratar tumores de próstata en ratones BALB/c inducidos con la línea celular LNCaP. Los autores recalcan que la principal ventaja de este radiofármaco es la vida media de 46 minutos y su decaimiento inmediato a un átomo estable. La captación del radiofármaco en las células tumorales fue del 5.8% y 2.7% para el I&T y el JVZ-008, respectivamente y se observó una rápida acumulación en el tumor. En el caso del trazador I&T la afinidad por las células tumorales fue mayor sin embargo también aumentó la dosis a riñón.

Aunque el ^{213}Bi mostró ser muy eficiente para destruir células tumorales metastásicas, el autor reportó que su corta vida media limitaba el tiempo durante el cual el radiofármaco podía dañar estas células, y que la toxicidad generada a los riñones debía ser vigilada constantemente.

Por su parte, Kratochwill & colegas (16) reportaron en el 2016 el uso del ^{225}Ac -PSMA-617, un radiofármaco que emite cuatro partículas α durante su cadena de decaimiento, en dos pacientes, uno que tenía una infiltración de mCRPC en la médula ósea y que había sido contraindicado para terapia con ^{177}Lu , y otro que tenía metástasis en el hígado y que había sido tratado previamente con ^{177}Lu -PSMA-617. Al primer paciente se le dieron tres ciclos de 9-10 MBq del radiofármaco cada dos meses. Después de los primeros dos meses se tomaron imágenes PET/CT, utilizando el radiofármaco ^{68}Ga -PSMA-11, donde las lesiones tumorales visibles habían desaparecido. El único efecto secundario fue xerostomía moderada, y el nivel de PSA disminuyó, de 2 923 ng/ml a 0.1 ng/ml (el límite máximo normal es de 0.4 ng/ml). El segundo paciente recibió tres ciclos de 6.4 MBq del radiofármaco cada dos meses, y las imágenes obtenidas al término del tratamiento mostraron una remisión total del tumor. El nivel

de PSA de este paciente disminuyó de 294 ng/ml a 0.1 ng/ml pero presentó xerostomía severa. Los autores concluyeron que las propiedades de este radiofármaco permiten dar una terapia más localizada que sus predecesores, disminuyendo la toxicidad en áreas importantes como la médula roja.

Un año después, el mismo grupo de trabajo reportó que la dosis estimada que recibieron pacientes con mCRPC (17), donde los cálculos se hicieron extrapolando datos existentes para dosimetría con ^{177}Lu -PSMA-617. Los pacientes ya habían sido tratados con docetaxel, quimioterapia y ^{223}Ra . Los órganos limitantes para el uso de este radiofármaco fueron las glándulas salivales y los riñones debido a su alta captación, pero en general los tratamientos fueron bien tolerados y el único efecto secundario ha considerar fue xerostomía moderada.

Recientemente, en 2019 Sathekge & colegas reportaron la aplicación del ^{225}Ac -PSMA-617 en 73 pacientes con mCRPC, con edades promedio de 69 años, y que habían sido tratados mediante prostatectomía, orquidectomía, radioterapia, braquiterapia e incluso supresión de andrógenos. El radiofármaco se administró en dosis de 8-4 MBq con un número de ciclos variable para cada paciente. Al final del tratamiento los niveles de PSA tuvieron un detrimento $\geq 50\%$ a los iniciales en el 70% de los pacientes logrando una sobrevida de 18 meses. No obstante, el 85% de los pacientes mostraron xerostomía moderada y 27 pacientes anemia (18).

Kratochwill y Nonnekens coinciden que el ^{225}Ac posee un potencial como agente terapéutico para tratar las metástasis óseas, pero mencionan que un posible inconveniente es la descomposición química del radiofármaco por efecto de la energía de retroceso que poseen los núcleos de los radioisótopos hijos formados a lo largo de la cadena de decaimiento del ^{225}Ac . Al respecto, ambos autores recomiendan hacer un seguimiento a los pacientes tratados para evaluar la estabilidad del radiofármaco y la toxicidad acumulada en algunos órganos de interés.

Aun así, como demostraron los trabajos de Kratochwill y Sathekge (17)(18) el ^{225}Ac posee un gran potencial terapéutico cuya efectividad es dependiente del trazador al que esté ligado. Este trabajo se enfocó en realizar los cálculos dosimétricos del ^{225}Ac unido a un inhibidor de PSMA, verificando la estabilidad del radiofármaco en un modelo

de metástasis ósea en ratones machos CD1, mediante la comparación de imágenes radionuclídicas de la zona tumoral y las zonas sanas de éstos.

2.2 Pregunta de investigación

¿Cuál es la dosis absorbida, debida al ^{177}Lu -iPSMA y al ^{225}Ac -iPSMA, en el núcleo de las células de cáncer de próstata utilizando un modelo *in vivo* de metástasis ósea?

2.3 Hipótesis

¿La dosis absorbida en el núcleo de las células debida al ^{225}Ac -iPSMA es superior a la del ^{177}Lu -iPSMA?

2.4 Objetivo general

Calcular la dosis absorbida en el núcleo de las células de cáncer de próstata, considerando la biocinética del ^{177}Lu -iPSMA y el ^{225}Ac -iPSMA en un modelo *in vivo* de metástasis ósea.

2.4.1 Objetivos específicos

- Estandarizar un modelo de metástasis ósea
- Evaluar la biodistribución y biocinética de los radiofármacos *in vivo*
- Obtener las fracciones de energía depositadas para cada radiofármaco, utilizando simulación Monte Carlo
- Calcular la dosis absorbida en el núcleo de las células de cáncer de próstata

Capítulo 3

Marco teórico

3.1 Dosimetría de la radiación ionizante

La dosimetría se refiere a la medición y cálculo de la dosis absorbida, o tasa de dosis, que se obtiene como resultado de la interacción de la radiación ionizante con la materia. La dosis absorbida se refiere a la energía absorbida por un material, por unidad de masa y su unidad de medida es el gray (Gy). Esta cantidad puede ser determinada de manera indirecta, midiendo primero una cantidad relacionada como kerma o exposición, y siendo calculada a partir de relaciones entre éstas (19).

Los cálculos dosimétricos en organismos vivos son descritos mediante el esquema de la Dosis Médica de Radiación Interna (MIRD), donde la dosis absorbida a un volumen blanco se obtiene a partir del número de desintegraciones totales en la región fuente multiplicado por un factor (denotado S en el esquema MIRD o bien factor de dosis DF por el software OLINDA) que indica la dosis absorbida a esta región blanco por unidad de desintegración de la región fuente. La suma de los productos de las regiones fuentes da la dosis total al volumen blanco (20).

Por otro lado, la medición de cualquier cantidad dosimétrica requiere de equipo especial como dosímetros o cámaras de ionización (19). La selección del equipo apropiado para determinar las unidades dosimétricas depende entre otras características del tipo de radiación ionizante y la energía de ésta. Los conceptos mencionados previamente están basados en una propiedad de la materia conocida como radiactividad, descubierta a finales del siglo XX.

3.1.1 La radiactividad de los átomos

La radiactividad de los átomos fue descubierta en 1896 por Henry Becquerel, y ésta es una propiedad de la materia donde el núcleo de un átomo inestable se transforma de manera espontánea en un núcleo más estable, liberando algún tipo de partícula energética, proceso también conocido como decaimiento nuclear (21). El decaimiento nuclear es un fenómeno probabilístico que está gobernado por una ley exponencial y todos los procesos radiactivos están basados en un parámetro llamado actividad (A). La actividad se define como el número de núcleos que se transforman, o *decaen*, por unidad de tiempo:

$$A(t) = A_0 e^{-\lambda t} \quad 1$$

En la ecuación anterior $A(t)$ es la actividad a un tiempo t , A_0 es la actividad inicial y λ es la constante de decaimiento del radionúclido. Las unidades de la actividad son becquerelios (Bq) o curie (Ci). Además, la constante de decaimiento se define como:

$$\lambda = \frac{\ln(2)}{\tau} \quad 2$$

En la ecuación anterior el parámetro τ se conoce como vida media y se define como el tiempo necesario para que la mitad de los núcleos radiactivos iniciales se transformen.

La ecuación 1 indica como calcular la actividad para el caso más simple, donde un átomo inestable (padre) decae a un único núcleo hijo, el cual es estable. Cuando el núcleo padre decae a un núcleo hijo que es también radiactivo, entonces el cálculo de la actividad se vuelve dependiente del equilibrio en las vidas medias de ambos núcleos (21). Cuando la vida media λ_h del núcleo hijo es menor que la del núcleo padre λ_p se tiene un equilibrio transitorio. En este caso la actividad del núcleo hijo se calcula de la siguiente manera:

$$A_h(t) = A_p(t) \frac{\lambda_h}{\lambda_p} \quad 3$$

Cuando la diferencia entre las vidas medias de ambos núcleos es muy grande se tiene un equilibrio secular, y la actividad del núcleo hijo es aproximadamente igual que la del núcleo padre:

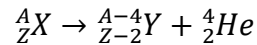
$$A_h(t) \approx A_p(t) \quad 4$$

La información anterior permite determinar la cantidad de material radiactivo que se tiene en una muestra a un cierto tiempo, pero esto no es suficiente para poder realizar un cálculo dosimétrico. Para poder determinar la dosis absorbida en un material es necesario conocer el tipo de decaimiento radiactivo que posee este material. Algunos de los decaimientos más comunes son α , β y γ .

3.1.1.1 Decaimiento alfa (α)

Este decaimiento se caracteriza por la emisión de una partícula α durante este proceso. Una partícula α es un núcleo de ${}^4\text{He}$, con una energía de ligadura de siete MeV/nucleón (21).

En física es común que ciertas cantidades o propiedades se mantengan invariantes durante el tiempo o en algún procedimiento, siendo la energía total, el momentum, la carga, el número atómico Z y el número de masa A ($A=Z+N$, donde N es el número de neutrones del núcleo) las cantidades conservadas en cualquier decaimiento. En particular, durante el decaimiento α se pierden 2 neutrones y 2 protones, que se convierten en una partícula α :



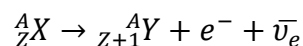
Un decaimiento es un proceso que requiere que exista la energía suficiente inicial para producirse y el valor Q (energía liberada al separar los protones y neutrones de un núcleo) es el parámetro que indica esta cantidad de energía disponible, lo que significa que conocer su valor permite determinar el tipo de decaimiento que puede ocurrir. En un decaimiento α el valor Q se calcula en términos de las masas atómicas como:

$$Q_\alpha = [M(p) - (M(h) + m_\alpha)]c^2 \quad 5$$

En la ecuación anterior c es la velocidad de la luz y M(p) y M(h) se refieren a las masas del núcleo padre e hija, respectivamente. Este tipo de decaimiento se presenta en núcleos pesados con $Z > 82$ y posee un espectro de energía discreto, que varía entre los 4 y 9 MeV. Por ejemplo, el ${}^{226}\text{Ra}$ es un radionúclido que decae, mediante la emisión de una partícula α , a ${}^{222}\text{Rn}$. Además del decaimiento α , existe otro decaimiento que se caracteriza por poseer un exceso de neutrones en su núcleo, el β .

3.1.1.2 Decaimiento beta (β^-)

Los átomos que decaen liberando partículas β poseen un mayor número de neutrones en el núcleo, respecto al número de protones. En el núcleo padre un neutrón se transforma en un protón, liberando un electrón (β^-) y un antineutrino electrónico:



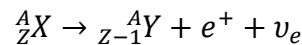
Esta es una transformación isobárica (no varía el número de masa A), el espectro de energía es continuo y para fines prácticos en dosimetría el valor de energía promedio que una partícula β adquiere es $Q/3$, donde el valor Q se calcula como:

$$Q_{\beta} = \{M(Z, A) - M(Z + 1, A)\} \quad 6$$

Además del decaimiento β , existe otro decaimiento donde el núcleo está compuesto mayoritariamente por protones pero que posee algunas características similares, el β^+ .

3.1.1.3 Decaimiento beta (β^+)

Este decaimiento se caracteriza por tener un mayor número de protones en el núcleo, respecto al número de neutrones. En éste núcleo un protón se transforma en un neutrón y se libera un positrón (β^+) y un neutrino electrónico:



De manera similar que el decaimiento β , esta también es una transformación isobárica, el espectro de energía es continuo, pero este último se encuentra recorrido hacia la derecha debido a la repulsión coulombiana del positrón con el núcleo (Figura 1). Además, el valor Q se calcula en términos de las masas atómicas como:

$$Q_{\beta^+} = \{M(Z, A) - (M(Z - 1, A) + 2m_e)\}c^2 \quad 7$$

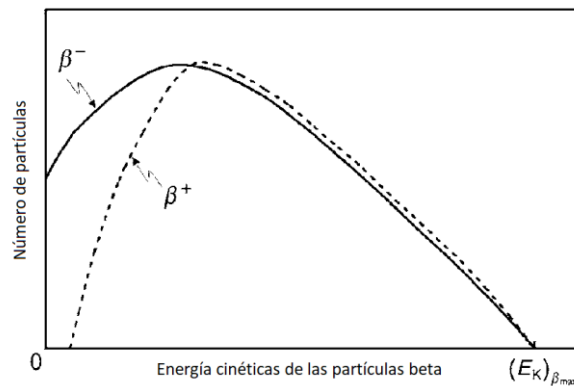


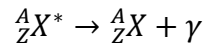
Figura 1: Espectros β negativo y β positivo, adaptado de (21).

Este decaimiento compite con otro proceso conocido como captura electrónica, y sólo se da si $Q > 1.022 \text{ MeV}$ (21).

Los 3 decaimientos anteriores mencionados emiten partículas cargadas, que definen una manera de interactuar con la materia, sin embargo, existe un decaimiento que se caracteriza por emitir partículas no cargadas, el γ .

3.1.1.4 Decaimiento gamma (γ)

Este decaimiento requiere de otro decaimiento previo, donde el núcleo hija resultante quedó en un estado excitado, conocido como metaestable (*). En esta transformación la energía excedente del átomo hija es liberado como un fotón γ (21).



El decaimiento γ es una transformación isomérica, donde los núcleos padre e hija poseen los mismos valores de Z y A, pero difieren en su estado de energía. Otra característica de esta transformación es que el espectro de energía es discreto, y el valor Q de las partículas γ se calcula en función de la energía E_γ de éstas de la siguiente manera:

$$Q_\gamma = E_\gamma \left\{ 1 + \frac{E_\gamma}{2M(h)c^2} \right\} \quad 8$$

Las partículas γ al atravesar algún material disminuyen su número debido a las interacciones que tienen con éste, fenómeno conocido como atenuación (22). El comportamiento de la atenuación de los fotones se rige por la ley de atenuación exponencial:

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad 9$$

Donde I e I_0 son la intensidad final e inicial del haz de fotones, x es el grosor del material y μ es el coeficiente lineal de atenuación del material atravesado y el cual indica la probabilidad de interacción de fotones con éste. Este coeficiente se compone de la probabilidad de interacción del fotón mediante efecto fotoeléctrico (τ), efecto Compton (σ_c), producción de pares (κ) y efecto Rayleigh (σ_r):

$$\frac{\mu}{\rho} = \frac{\tau}{\rho} + \frac{\sigma_c}{\rho} + \frac{\kappa}{\rho} + \frac{\sigma_r}{r} \quad 10$$

En el efecto fotoeléctrico un fotón interacciona con un electrón de la órbita más interna de un átomo, cediéndole toda su energía al electrón y en consecuencia liberándolo del átomo. En el efecto Compton un fotón interacciona con un electrón de las últimas

capas orbitales de un átomo, liberando a este electrón y a un fotón en distintas direcciones. La producción de pares consiste en la interacción de un fotón con un átomo, produciendo un electrón y un positrón en direcciones opuestas. Este efecto requiere que el fotón incidente tenga una energía $Q > 1.022$ MeV. Por otro lado, el efecto Rayleigh consiste en la interacción de un fotón con un átomo, donde el último vibra al absorber al primero, liberando un nuevo fotón en una dirección ligeramente diferente.

Una vez que se conocen algunos de los decaimientos más importantes, lo siguiente es conocer las características específicas de los radionúclidos de interés.

3.1.2 Radionúclidos ^{177}Lu y ^{225}Ac

3.1.2.1 Características del ^{177}Lu

El ^{177}Lu es un radionúclido que decae por β^- a ^{177}Hf , con una vida media de 6.65 días. El 78.6% de sus decaimientos es por β^- con una $E_{\beta\text{max}} = 497$ keV, el 9.1% decae por β^- con $E_{\beta\text{max}} = 384$ keV y el 12.2% decae por β^- a un estado metaestable con $E_{\beta\text{max}} = 176$ keV, de donde se producen fotones con energías de 113 keV y 208 keV. El esquema de decaimiento se muestra en la Figura 2.

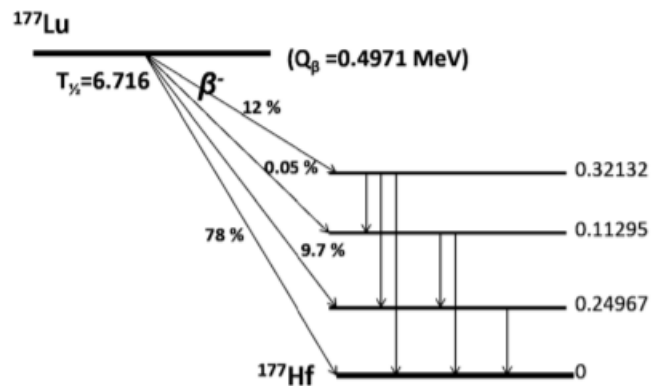


Figura 2: Esquema de decaimiento del ^{177}Lu (23).

El ^{177}Lu es un radionúclido utilizado en medicina nuclear para terapia dirigida debido a que la penetración promedio de sus partículas β en tejido suave es de 670 μm . Además, la emisión de fotones γ permite obtener imágenes de la biodistribución y cinética del compuesto radiomarcado, antes y durante el tratamiento de un paciente.

El ^{177}Lu se puede obtener de un reactor nuclear mediante la reacción $^{176}\text{Lu}(n,\gamma)^{177}\text{Lu}$ o mediante la reacción indirecta $^{176}\text{Yb}(n,\gamma)^{177}\text{Yb} \rightarrow ^{177}\text{Lu}$, donde se requiere una separación química posterior (23). Para poder utilizar las moléculas marcadas con ^{177}Lu es necesario realizar pruebas de control de calidad, tales como pureza radionuclídica, pureza radioquímica y pureza química. La pureza radionuclídica se refiere a la razón de la radiactividad debida al radionúclido deseado respecto a la de toda la muestra. Ésta se determina con un detector de germanio hiperpuro y un analizador de multicanal. La pureza radioquímica indica la proporción de la radiactividad del radionúclido deseado en la forma química deseada, respecto a la muestra total, y esta se puede analizar utilizando papel y líquido cromatográfico. Por último, la pureza química se refiere a la cantidad del núclido de interés, respecto al total de la muestra, y éstos se separan mediante métodos químicos (23).

3.1.2.2 Características del ^{225}Ac

El ^{225}Ac es un emisor α puro con una energía de 5.8 MeV y posee una vida media de 9.92 días (24). Este radionúclido se produce a partir de un generador de ^{229}Th y posee una cadena de decaimiento donde se emiten partículas α y β^- (Figura 3).

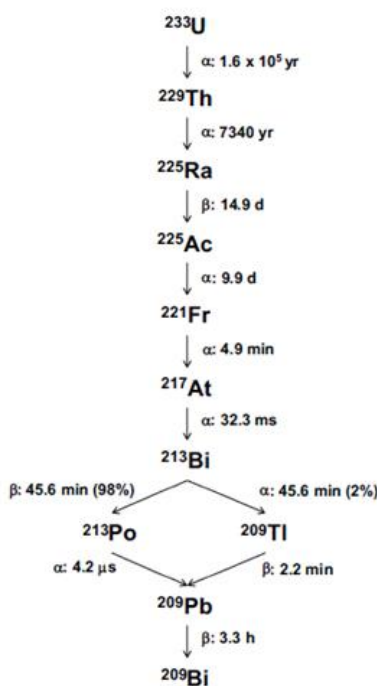


Figura 3: Esquema de decaimiento de ^{225}Ac (25).

Como emisor α posee un alto LET que permite irradiar localmente tumores malignos disminuyendo el daño a los tejidos laterales, además, posee una dosis de irradiación efectiva de 2-3 órdenes mayor que la producida con partículas β (26).

Debido a las diferentes características de estos radionúclidos se requieren distintos tipos de equipos para poder detectar cada una de estas emisiones.

3.1.3 Detectores de radiación

La radiación es imperceptible para los humanos ya que no se puede oír, degustar, ver o sentir. Debido a esto se han utilizado detectores de radiación que permiten medir la radiactividad en humanos, animales o cosas. En medicina nuclear estos detectores suelen estar constituidos por un detector, una fuente de voltaje, amplificadores, analizadores multicanal y un dispositivo de lectura (27). Uno de los detectores más utilizados en esta área son los contadores de pozo. El contador de pozo es un detector de centelleo que puede ser sólido o gaseoso. El detector de estado sólido posee un cristal centellador que genera luz cuando la radiación ionizante incide en éste. La cantidad de luz producida por el material centellador es muy poca, por lo que se utilizan tubos fotomultiplicadores para compensar esta deficiencia (27).

3.1.3.1 Tubos fotomultiplicadores

Son tubos electrónicos que emiten una corriente de electrones al ser estimulados por luz, la cual es producida en el material centellador. La superficie interna del tubo está compuesta de un material fotoemisivo, es decir, que emite electrones cuando le incide luz, por ejemplo, el Antimonio de Cesio (CsSb). El tubo posee en su interior un fotocátodo, que emite los electrones y éstos últimos son llamados fotoelectrones. Su eficiencia de conversión de luz a electrones es de 1 a 3 fotoelectrones por 10 fotones de luz que inciden en el fotocátodo. Así mismo, dentro del tubo hay dinodos, los cuales son pequeños platos metálicos sometidos a un voltaje positivo y que atraen a los fotoelectrones. Cuando un fotoelectrón golpea un dinodo libera una gran cantidad de electrones los cuales son atraídos al segundo dinodo, y este proceso se repite muchas

veces. Finalmente, todos los electrones generados son recolectados por un ánodo (Figura 4).

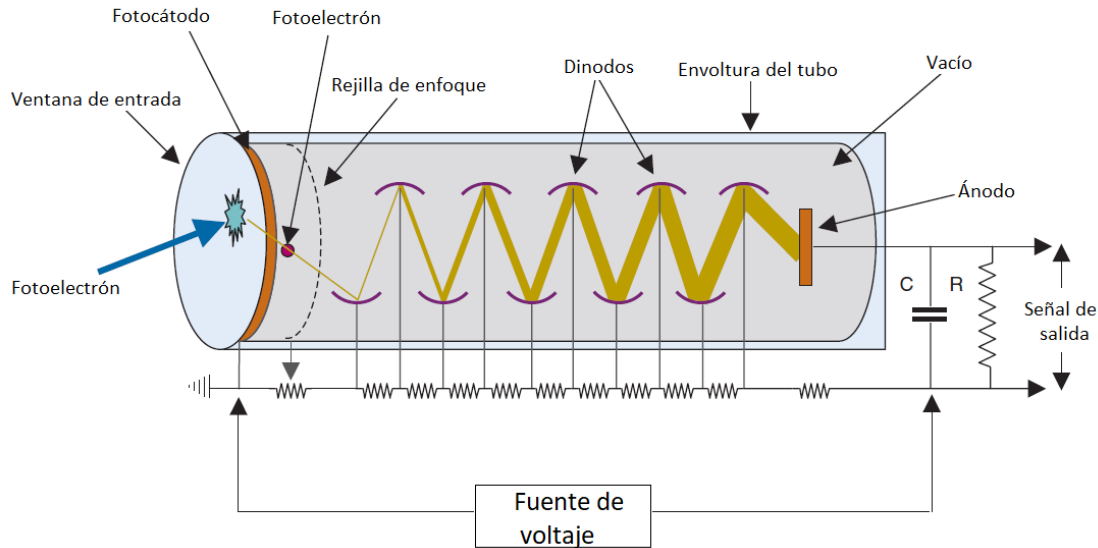


Figura 4: Estructura de un tubo fotomultiplicador, adaptado de (27).

Los tubos fotomultiplicadores son colocados junto al material centellador. Entre los materiales centelladores más comunes se encuentra el Yoduro de Sodio, dopado con Talio (NaI(Tl)) el cual pertenece a los centelladores inorgánicos.

3.1.3.2 Centelladores inorgánicos

Estos son cristales sólidos cuyo centelleo depende de las características de su estructura cristalina. Estos cristales poseen impurezas de otros átomos en su estructura, los cuales son responsables del efecto de centelleo. El detector de centelleo más comúnmente usado en medicina nuclear es el NaI (TI), el cual funciona a temperaturas muy bajas, por lo que requiere del uso de nitrógeno líquido. Los cristales son colocados dentro de un material de aluminio, con una ventana transparente que permite el paso de la luz a los tubos fotomultiplicadores, los cuales están sellados herméticamente y protegidos a movimientos mecánicos (27).

El detector de NaI(Tl) permite medir la actividad proveniente de partículas β o γ de baja energía, por lo que es necesario conocer las características de emisión de los

radionúclidos cuya actividad se desea medir, para poder saber si este detector es adecuado para su medición.

3.2 El cáncer de próstata

La radiación ionizante, como aquella producida por los radionúclidos mostrados, tiene la capacidad de ionizar y excitar la materia. En materia viva como las células, el ADN es el principal blanco donde los daños generados producen muerte celular, mutaciones y carcinogénesis (28).

La carcinogénesis genera alteraciones morfológicas y funcionales, derivadas de una gran proliferación de células malignas que pueden adquirir la capacidad de invadir otros tejidos u órganos. Entre los tipos de cáncer más comunes están el de pulmón, estómago, mama y próstata. Respecto al cáncer de próstata, en 2015 en México se estimó una mortalidad de 13 por cada 100,000 hombres (10). La próstata es una glándula y una de sus funciones primordiales es la de producir líquido seminal y el tipo más común de este cáncer en este sitio es el adenocarcinoma (29). La próstata suele tener un tamaño de 3x4x2 cm y rodea la uretra prostática, además, está constituida en dos terceras partes por una porción glandular y una tercera parte es fibromuscular. El acino es la unidad funcional de la próstata y esta se compone de elementos epiteliales y estromales, los cuales están separados por una membrana basal (30). La próstata produce sustancias que promueven la reproducción, y en condiciones normales los andrógenos combinados con la testosterona producen dehidrotestosterona, y ésta estimula a las células estromales que producen los factores de crecimiento y estimulan la producción del Antígeno Prostático Específico (PSA por sus siglas en inglés) (31). El PSA es una glicoproteína que se encarga de la licuefacción del semen, y éste se distribuye de tal forma que en el compartimiento seminal se concentra entre 0.5 y 5 mg/ml, en el interior de la glándula posee concentraciones de hasta 1 mg/ml y en el compartimiento vascular de hasta 4 ng/ml. No obstante, en presencia de un tumor estas cantidades aumentan. Cuando un tumor crece demasiado, es posible que este se extienda a otras regiones creando metástasis, las cuales generan mucho dolor al paciente y reducen su calidad de vida. Estas metástasis derivadas de células de cáncer en próstata suelen ser de tipo

osteoblásticas, es decir, las metástasis migran a los huesos del cuerpo, tales como el fémur, la columna vertebral, pelvis o el húmero (32)(33).

Cuando la próstata presenta cáncer se vuelve autócrina, pierde la membrana basal y la capa de células estromales, y la parte epitelial es la única que se mantiene intacta produciendo grandes cantidades de PSA. Este aumento de PSA se utiliza como marcador para evaluar presencia de tumores. Además del PSA, existen otros marcadores para el manejo del cáncer de próstata, como el Antígeno Prostático Específico de Membrana (PSMA) (31).

3.2.1 Antígeno Prostático Específico de Membrana (PSMA)

La enzima glutamato carboxipeptidasa II o PSMA es una glucoproteína transmembranal formada por 750 aminoácidos que se localiza en la bicapa lipídica de la membrana de células epiteliales de la próstata. El PSMA participa en la proliferación celular y transducción de señales (34). Además, ésta se encuentra sobreexpresada en el 95% de los casos de cáncer de próstata avanzado. Debido a esto, la sobreexpresión del PSMA se utiliza como blanco terapéutico (35). Los niveles de expresión de PSMA se correlacionan inversamente con el grado de diferenciación tumoral (36). Debido a la propiedad mencionada, PSMA es un blanco adecuado para el desarrollo de radiofármacos de blancos moleculares dirigidos a la detección y tratamiento de cáncer de próstata.

3.2.2 Los radiofármacos

Los radiofármacos contienen átomos radiactivos que, por su forma farmacéutica, cantidad y calidad de su radiación son administrados en humanos para dar tratamientos de diagnóstico o terapia. Dentro de los radiofármacos los de tercera generación permiten localizar sitios específicos como receptores en una membrana celular. Estos poseen un agente bifuncional entre el radionúclido y la molécula blanco que permite que ambos se enlacen, y utilizan un fragmento bioactivo que transporta el radionúclido al sitio de interés (37). Este tipo de radiofármacos permiten dar terapias dirigidas (38).

En particular, las terapias dirigidas o de blancos moleculares, utilizan moléculas que interactúan con blancos moleculares específicos involucrados funcionalmente en la activación de distintas vías intracelulares que conducen al crecimiento tumoral (39). Las terapias de blancos moleculares son más selectivas, dañando menos a las células normales y de esa manera reduciendo los efectos secundarios y mejorando la calidad de vida (39).

Por otra parte, los radionúclidos utilizados para estas terapias suelen ser emisores β , α o en menor proporción los electrones Auger. Los emisores β utilizados en terapias dirigidas poseen un alcance que permite tratar pequeñas masas tumorales, en algunos casos como el ^{32}P y el ^{89}Sr poseen características químicas que les permite localizarse de manera natural en el hueso (40), en otros casos como el ^{177}Lu se emiten partículas γ además de las β por lo que se pueden obtener imágenes antes y durante un tratamiento (6). No obstante, en algunos casos estos radiofármacos generan mielosupresión en los pacientes, en el caso de metástasis en la médula ósea el alcance de estas partículas β es una limitante en el tratamiento con éstos y se ha observado que los pacientes con mCRPC no logran una remisión completa de los tumores (4).

Por otro lado, los emisores α utilizados en terapias dirigidas poseen un mayor LET comparado con los emisores β , teniendo una mayor capacidad para eliminar células tumorales (4). También poseen un alcance menor que las partículas β pudiendo dañar directamente el ADN de células tumorales si es que este radiofármaco es internalizado correctamente en la célula. El corto alcance que poseen las partículas α las convierte en una buena opción para tratar tumores pequeños que se encuentran en regiones rodeadas por tejido radiosensible, como la médula ósea. En algunos casos los emisores α se dirigen de manera natural al hueso debido a su estructura química, como el ^{223}Ra . Ciertos radionúclidos como el ^{225}Ac y el ^{223}Ra han probado ser capaces de eliminar tumores que eran resistentes a terapias convencionales (4)(16). Sin embargo, los emisores α son elementos pesados que comúnmente poseen una gran cadena de decaimiento emitiendo átomos con la capacidad de romper la estructura del radiofármaco y ser liberados en sitios no deseados y como consecuencia producir toxicidad en órganos o tejidos sanos. Además, en algunos casos estos radiofármacos

poseen una vida media física larga y son captados en órganos de riesgo como los riñones (13). Por último, algunos radionúclidos emisores α como el ^{225}Ac son difíciles de producir por lo que son muy costosos.

Por otra parte, en el caso específico del cáncer de próstata el patrón de expresión del PSMA lo vuelve un excelente blanco para la terapia dirigida (41).

3.2.2.1 Inhibidores del Antígeno Prostático Específico de Membrana

El sitio con actividad enzimática de PSMA contiene zinc y presenta alta afinidad por la secuencia Glu-NH-CO-NH-Lys (ácido glutámico-Urea-Lysina) presente en los inhibidores de PSMA que se unen a esta región e inhiben efectivamente su actividad. Previamente en el 2012 Eder & colegas propusieron un inhibidor de PSMA combinado con un complejo de ^{68}Ga , donde la base de este fármaco poseía tres grupos carboxílicos capaces de interactuar con las cadenas laterales del PSMA, un zinc que se coordinaba con el oxígeno en el centro activo y una estructura aromática capaz de interactuar con el sitio hidrofóbico activo de la enzima (42). La biomolécula creada combinada con el inhibidor de PSMA se probó en ratones Balb/c, inoculados previamente con células tumorales LNCaP. Los autores observaron que es necesario que un inhibidor interactúe con todos los lugares de ligadura del PSMA para lograr una buena internalización en ésta. El radiofármaco permitió la obtención de imágenes de buena calidad de los sitios tumorales en el ratón probando la eficiencia de este inhibidor de PSMA.

Del artículo anterior se concluye que los inhibidores de PSMA son eficientes para dirigir un radiofármaco a las zonas tumorales de cáncer de próstata, permitiendo no sólo utilizar radiofármacos para obtener imágenes, sino también para utilizarlos en terapias dirigidas.

3.2.2.2 Radiofármacos basados en inhibidores de PSMA (iPSMA)

El iPSMA-LANIDER es un nuevo radiofármaco desarrollado en el Laboratorio Nacional de Investigación y Desarrollo (LANIDER) que puede ser utilizado en los servicios de medicina nuclear para detectar con alta afinidad a la proteína PSMA *in vivo*. Su estructura incluye la molécula de reconocimiento biológico β -naftil alanina=Glu-Urea-

Lys(Nal) acoplada al agente quelante DOTA que hace posible su radiomarcado con ^{177}Lu (Figura 5).

La aplicación clínica del inhibidor ^{177}Lu -iPSMA (6) ha sido probada en 10 pacientes con cáncer de próstata confirmado, recibiendo hasta cuatro ciclos de este radiofármaco cada 8-10 semanas mostrando su capacidad para dirigirse a tumores blandos y a metástasis óseas de cáncer de próstata, disminuir el 50% de los niveles de PSA y destruir al 70% de las lesiones metastásicas. Sin embargo, las metástasis óseas parecen responder menos a este tratamiento, respecto a las lesiones viscerales o de los ganglios linfáticos.

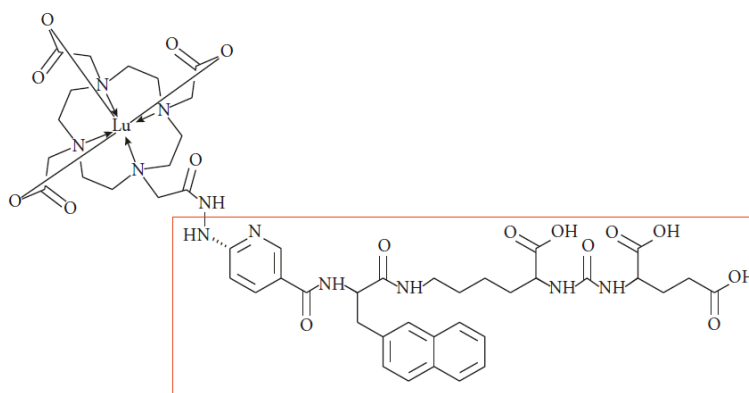


Figura 5: Estructura química del ^{177}Lu -iPSMA, la región encerrada corresponde al iPSMA (6).

La pureza radioquímica de este radiofármaco es del 99%, con una actividad molar inicial de 70 GBq/ μmol antes de inyectarse a los pacientes.

El iPSMA-LANIDER es una molécula que actúa como par teranóstico, es decir, que puede ser marcado con emisores beta como el ^{177}Lu , emisores gamma como el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e inclusive con emisores alfa como el ^{225}Ac permitiendo su aplicación con fines diagnósticos y terapéuticos. El hecho de que se puede radiomarcarse con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ para formar el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -iPSMA (43) permite obtener imágenes diagnósticas en equipos SPECT/CT. Cabe mencionar como ventaja adicional que el marcaje con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ lo hace más económico y accesible dado que este radionúclido es fácilmente obtenible de un generador de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$, por lo que puede ser producido en mayor cantidad que el ^{68}Ga y su aplicación es más viable ya que hay más equipos SPECT/CT que equipos PET/CT en el mundo.

3.2.2.3 Radiofármaco $^{223}\text{RaCl}_2$

El radionúclido radio-223 (^{223}Ra) es un emisor α , con una vida media de 11.4 días, que posee afinidad por el hueso permitiéndole unirse a la hidroxapatita del hueso mineral, en especial en lugares donde hay gran regeneración ósea, tal como en una metástasis ósea. Coleman & colegas reportaron el uso de dicloruro de radio-223 en 25 pacientes con metástasis óseas mostrando buena tolerancia al tratamiento y leucopenia leve (44). No obstante, debido a que se une a todo tipo de hueso, con este tratamiento también se genera daño al hueso sano, y debido a su incapacidad de ser unido a una biomolécula para obtener un tratamiento más dirigido se han buscado nuevos radionúclidos emisores α .

Debido a que la mayoría de los tratamientos con emisores α se encuentran en fase experimental usualmente las pruebas de la eficiencia de estos radiofármacos no se realizan en pacientes humanos y en su lugar se utilizan ratones para realizar este tipo de pruebas. Dada la dificultad para lograr que un ratón desarrolle cáncer de próstata o metástasis ósea, se han desarrollado modelos animales de metástasis óseas inoculando células tumorales en ratones (45).

3.2.3 Modelos de metástasis óseas

En el caso de los modelos preclínicos, estos permiten obtener información necesaria para diseñar subsecuentes estudios clínicos con alguna droga, fármaco, etc. y existen modelos *in vitro* e *in vivo*. Los modelos *in vitro* consisten en cultivos de un tipo de células o de órganos, y permiten estudiar fenómenos biológicos simples como expresiones de genes o mutaciones específicas. Por otra parte, los modelos *in vivo* estudian un fenómeno de interés tal como sucede dentro de un organismo vivo y son sistemas más complejos que los primeros (46).

Las metástasis óseas derivadas del cáncer de próstata suelen ser de tipo osteoblásticas, por lo que los modelos de metástasis óseas de interés son de tipo osteoblasticos. Uno de los modelos animales *in vivo* de metástasis ósea de tipo osteoblástica es la placa de hueso ectópica. La placa de hueso ectópico consiste en la inducción de nuevo hueso ectópico al implantar partículas de matriz ósea desmineralizada (PMOD) de manera subcutánea en ratones. Los fibroblastos rodean las PMOD, transformándose en condroblastos que posteriormente se diferencian en

condrocitos, se hipertrofian y entonces se empieza el proceso de osteogénesis. El nuevo hueso es formado por osteoblastos en ese sitio. Este modelo es fácil de manipular y reproducible.

Debido a que no existe un modelo animal ideal para estudiar las metástasis derivadas del cáncer de próstata, se han planteado modelos diferentes al de hueso ectópico. En 1997 Sato & colegas (47) desarrollaron un modelo intraprostático de metástasis ósea donde ratones atímicos Balb/c fueron inoculados con células tumorales LNCaP en el lóbulo dorsal de la próstata. Aunque este modelo produjo metástasis en pulmones y ganglios linfáticos, la incidencia de metástasis óseas fue sólo del 10%.

Por su parte, Fisher & colegas (48) propusieron en 2002 un modelo intratibial de metástasis ósea, donde ratones Balb/c fueron inoculados con células tumorales LNCaP, PC3 y DU-145 en la tuberosidad anterior de la tibia, debajo de la diáfisis de ésta. Los ratones inoculados con PC3 y DU-145 desarrollaron tumores en la tibia, pero aquellos inoculados con LNCaP no presentaron ningún cambio.

Otro modelo de metástasis convencional utilizado es el de inyección intracardiaca (49). En este modelo las células tumorales se inyectan en el ventrículo izquierdo del corazón de ratones atímicos. La mayoría de las metástasis se producen en la metáfisis de huesos largos, pero en este modelo es difícil saber la patogénesis de estas metástasis después de la inyección.

La elección de un determinado modelo de metástasis ósea, depende del tipo de células tumorales disponibles, del fenómeno específico a estudiar y de la cepa de, por lo que en ocasiones puede que sea necesario utilizar varios modelos antes de elegir aquel que se acople a un experimento de interés. Una vez que se cuenta con el modelo de metástasis adecuado para generar los tumores deseados, es posible elegir el método para realizar una buena dosimetría.

3.3 Dosimetría celular

Recientemente, se han realizado pruebas clínicas con terapias dirigidas utilizando emisores β y electrones Auger (50). Mientras que éstos han sido estudiados extensamente, se han empezado a investigar los emisores α por su alto LET. El primer radionúclido aprobado para su aplicación clínica fue el ^{223}Ra , de Xofigo.

Un correcto tratamiento clínico necesita una buena planeación, lo que incluye una correcta dosimetría a tumores y órganos críticos. En tratamientos de terapias dirigidas el esquema de la Dosis Médica de Radiación Interna (MIRD) se considera como el estándar para dosimetría. En este esquema se sabe que la dosis absorbida a un órgano no es uniforme, pero se considera que el promedio de ésta es suficientemente representativa y que el radionúclido está distribuido homogéneamente en la célula y su medio extracelular. Esto es válido sólo si se considera que el rango de las partículas emitidas por los radionúclidos es mayor que el tamaño de la célula, lo que no sucede para electrones Auger de baja energía (51). La mayoría de los estudios que evalúan la eficiencia de distintos radiofármacos a nivel celular o de pequeños tumores se enfocan en emisores β y electrones Auger, siendo los estudios de partículas α muy limitados.

Algunos estudios hechos en emisores β fueron reportados por Bardies & colegas (52) en 1993, donde se calculó la fracción de dosis absorbida de 22 radionúclidos utilizados para radioinmunoterapia mediante simulaciones Monte Carlo. Por su parte, Faraggi & colegas (53) en 1998 tabularon los valores de actividad acumulada absorbida en núcleos celulares por emisiones de electrones de cinco radionúclidos. Este grupo determinó la actividad acumulada para distintas células, distintos tamaños y diferentes distribuciones de radiactividad. Más recientemente, en 2015 Sefl & colegas (54) calcularon los valores S (dosis por unidad de desintegraciones nucleares) para células esféricas, elípticas e irregulares, considerando los radionúclidos ^{99m}Tc , ^{111}In y ^{125}I . Los cálculos se obtuvieron mediante simulación Monte Carlo con el código Geant4, donde se observó que los valores S calculados con geometría esférica no deben ser utilizados para geometrías irregulares de células, debido a errores en la estimación de dosis.

Aunque el ^{223}Ra fue el primer radionúclido emisor α aprobado para su uso clínico, por sus propiedades químicas no puede unirse a ninguna molécula trazadora, por lo que no se puede utilizar para terapia dirigida (55). Por otra parte, algunos de los radionúclidos emisores α que se han propuesto para utilizarlos en terapias dirigidas son el ^{213}Bi , ^{225}Ac y ^{211}At . El ^{225}Ac posee un gran potencial terapéutico debido a la emisión de cuatro partículas α de gran energía y a la facilidad para unirlo a una

molécula trazadora. No obstante, su capacidad para romper la molécula quelante y su alto costo dificultan mucho que se realice una investigación más amplia con este radionúclido (56).

Lee & colegas (50) en 2018 estudiaron el efecto del LET de las partículas α del ^{225}Ac , ^{213}Bi y ^{212}Pb a partir de la determinación del valor S y su posterior comparación con algunos emisores β . Las células se consideraron esféricas, se modelaron cuatro tamaños distintos, las fuentes se consideraron isotrópicas y distribuidas uniformemente en cada compartimento celular. Los valores S se obtuvieron del software MIRDcell. Para determinar las diferencias de los valores S entre partículas α y β se estudiaron seis líneas celulares: BON-1, NCI-H727, DU-145, PC-3, A375 y A2058. Se observó en general que el ^{225}Ac lograba un depósito de dosis 4-5 veces mayor que el ^{212}Pb y ^{213}Bi , y así mismo un depósito 240-520 veces mayor que el ^{177}Lu . La dosis absorbida por los núcleos celulares fue altamente dependiente de la internalización del radiofármaco y del tipo de radionúclido. Cuando un emisor α era correctamente internalizado al núcleo la dosis aumentaba por un factor de 2.3.

Los trabajos anteriores muestran por lo tanto que para el caso de emisores α , es necesario realizar una dosimetría que requiere conocer la distribución de la actividad como función del tiempo a nivel celular y subcelular, así como una adecuada representación de la geometría de la célula. Como se revisó en estos trabajos en estudios *in-vitro* se suele representar a una célula y su núcleo como esferas concéntricas, cuyas dimensiones son fácilmente calculadas, sin embargo, en la realidad esta idealización puede generar errores, por lo que es recomendable conocer la correcta geometría del objeto de estudio. La metodología MIRD es eficiente para determinar el valor promedio de la dosis absorbida a cada compartimento celular cuando se trata con muchas partículas de bajo LET ya que logran generar un efecto biológico visible y la variación estadística del depósito de energía a una célula es mínima. No obstante, con partículas de alto LET un solo evento en el núcleo celular puede producir un gran efecto biológico, debido a que estadísticamente el número de estas partículas que atraviesan el núcleo son muy pocas, por lo que una variación en su número es importante y, además, el corto alcance de una partícula α puede producir un gran depósito de energía en el núcleo (20). Como consecuencia, es necesario

lograr una adecuada internalización del radiofármaco en la célula, la cual depende completamente de la biomolécula que se utilice para dirigir el radionúclido.

Capítulo 4

Metodología

4.1 Obtención y preparación del ^{177}Lu -iPSMA

El péptido inhibidor de PSMA (iPSMA) fue sintetizado por Ontores Biotechnology Co., Ltd (Zhejiang, China), con una pureza >98%, y analizado por HPLC (RP-HPLC) y espectroscopía de masa. El cloruro de lutecio ($^{177}\text{LuCl}_2$) se obtuvo como una solución, estéril y libre de portadores, de $^{177}\text{LuCl}_2$ en 0.04 M de HCL, con una actividad de 40 GBq/ml (EndolucinBeta, ITG Alemania) (43).

En nuestro estudio el ^{177}Lu -iPSMA se preparó a partir de una fórmula liofilizada multidosis bajo condiciones asépticas en una instalación certificada por GMP utilizando el método descrito por Luna-Gutiérrez et. al. (2017). Para la síntesis radioquímica, el vial de $^{177}\text{LuCl}_3$ (40 GBq/ml) fue colocado en una jeringa y se le agregaron de 1-1.5 ml de búfer de acetato (1 M y pH 5.0). El volumen total fue extraído con una jeringa estéril y utilizado posteriormente para marcar el kit liofilizado de iPSMA. El vial reconstituido fue calentado en un baño seco a 95 °C por 30 min. Después se dejó enfriar a temperatura ambiente.

4.1.1 Evaluación de la pureza radioquímica

La pureza radioquímica fue evaluada utilizando un radio-HPLC equipado con un detector de radioactividad (Gaby, Raitest, Alemania) y una columna Bondapak C18 (5 μm ; 3.9x300 mm). Los análisis se realizaron con un gradiente lineal de 0.1 % TFA con agua (solvente A) y 0.1 % de TFA con acetonitrilo (solvente B), con un flujo de 1 ml/min, y de 0 a 70 % del solvente B en 20 minutos.

El método empleado para la evaluación de la pureza radioquímica fue la misma para el ^{177}Lu -iPSMA y para el ^{225}Ac -iPSMA.

4.2 Obtención y preparación del ^{225}Ac -iPSMA

La solución de ^{225}Ac (Figura 6) se obtuvo de la empresa Isotope Technologies Garching (ITG, Alemania). El radionúclido se obtuvo en un vial en una concentración de 0.1 M. La preparación se realizó de manera análoga al ^{177}Lu -iPSMA.



Figura 6: Solución de ^{225}Ac

4.3 Cultivo celular

Las células de cáncer de próstata LNCaP (PSMA positivo) fueron cultivadas en medio RPMI-1640 suplementado con antibióticos (penicilina y estreptomicina, 100 µg/ml) y suero bovino fetal a una concentración final de 15 %, usando una atmósfera humidificada con CO_2 al 5% y una temperatura de incubación de 37 °C.

4.4 Modelo de inoculación intraóseo de metástasis ósea

Se emplearon 15 ratones macho CD1 de 6 a 8 semanas de edad, distribuidos aleatoriamente en dos grupos; I. Grupo control sano, y II. Grupo inoculado con células de cáncer LNCaP. Los animales se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio, con agua y alimento a libre demanda, con temperatura de 20-24°C, humedad de 40-55% y ciclos de luz/obscuridad de 12x12 horas.

Para el procedimiento quirúrgico los ratones fueron anestesiados con Pentobarbital sódico y bajo condiciones asépticas se realizó una incisión en la articulación femurotibial izquierda del ratón (Figura 7).



Figura 7: Incisión intramedular, a través de la articulación femurotibial del ratón

Se inyectó una cantidad de 5 μ l de una suspensión de células LNCaP (1×10^7 cels/ml) en la incisión realizada y después la herida se suturó con hilo seda. Se marcó el ratón con un plumón en distintas zonas para indicar el lugar de incisión. Tomando el día de operación como cero, se esperaron de 4 a 6 semanas para el desarrollo de las metástasis. Durante este periodo de tiempo se revisó al ratón al menos dos veces por semana en busca de alguna anomalía o patología presentada en éste. Para verificar el progreso tumoral se obtuvieron imágenes por rayos X y radioisotópicas usando ^{99m}Tc -RGD en el equipo de imagen preclínica Xtreme (Figura 8).



Figura 8: Equipo Xtreme utilizado para toma de imágenes

Cumplido el tiempo de incubación en el ratón, éste fue sacrificado utilizando gas isoflurano. Previo a la toma de muestras, se realizó exanguinación por vía cardiaca directa. Se tomaron como muestras los lugares de inoculación de la metástasis, así como el, riñón, hígado o cualquier órgano que pudiese brindar información de la presencia de metástasis. Los residuos biológico-infecciosos se almacenaron en congelación hasta su depósito en empresa responsable para tal fin.

4.4.1 Histopatología de las muestras

Una vez obtenidas las muestras de los tejidos u órganos de interés se colocaron éstos en distintos frascos con formol durante 24-72 horas. Después se cambió el formol de las muestras por alcohol al 70 %, donde se dejaron por al menos 24 horas. En el caso del hueso obtenido del ratón, debido a su dureza, este se colocó en una solución de EDTA (8 %, pH neutro) la cual fue cambiada cada 24 horas durante 14 días.

El tratamiento de las muestras requirió un proceso de deshidratación previo a su fijación en parafina el cual consistió en la transferencia de la muestra a soluciones con diferente porcentaje de alcohol hasta llevarlas a xileno, de acuerdo a lo mostrado en el siguiente diagrama de flujo (Figura 9).

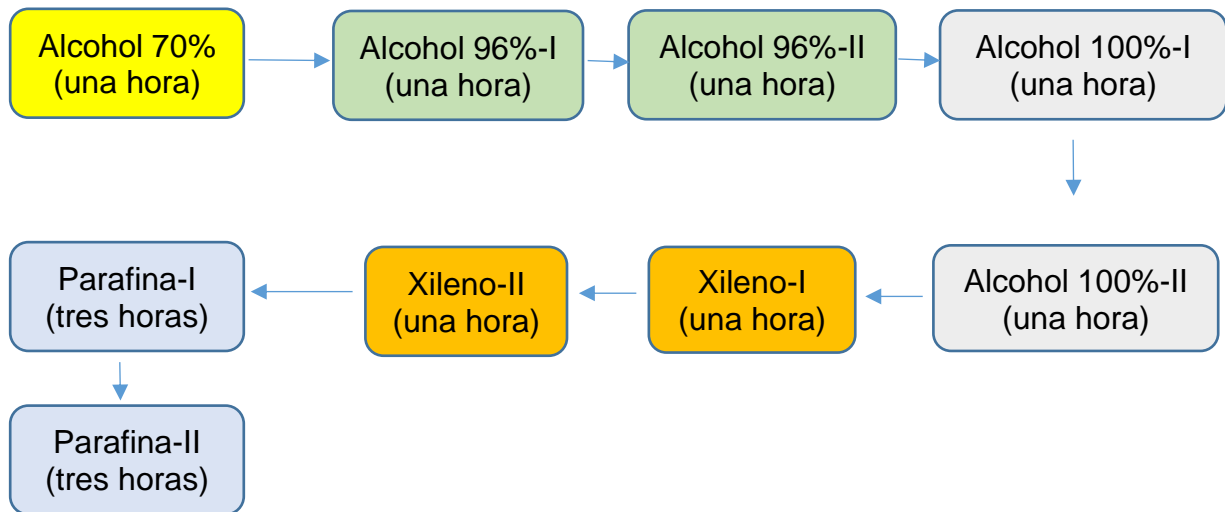
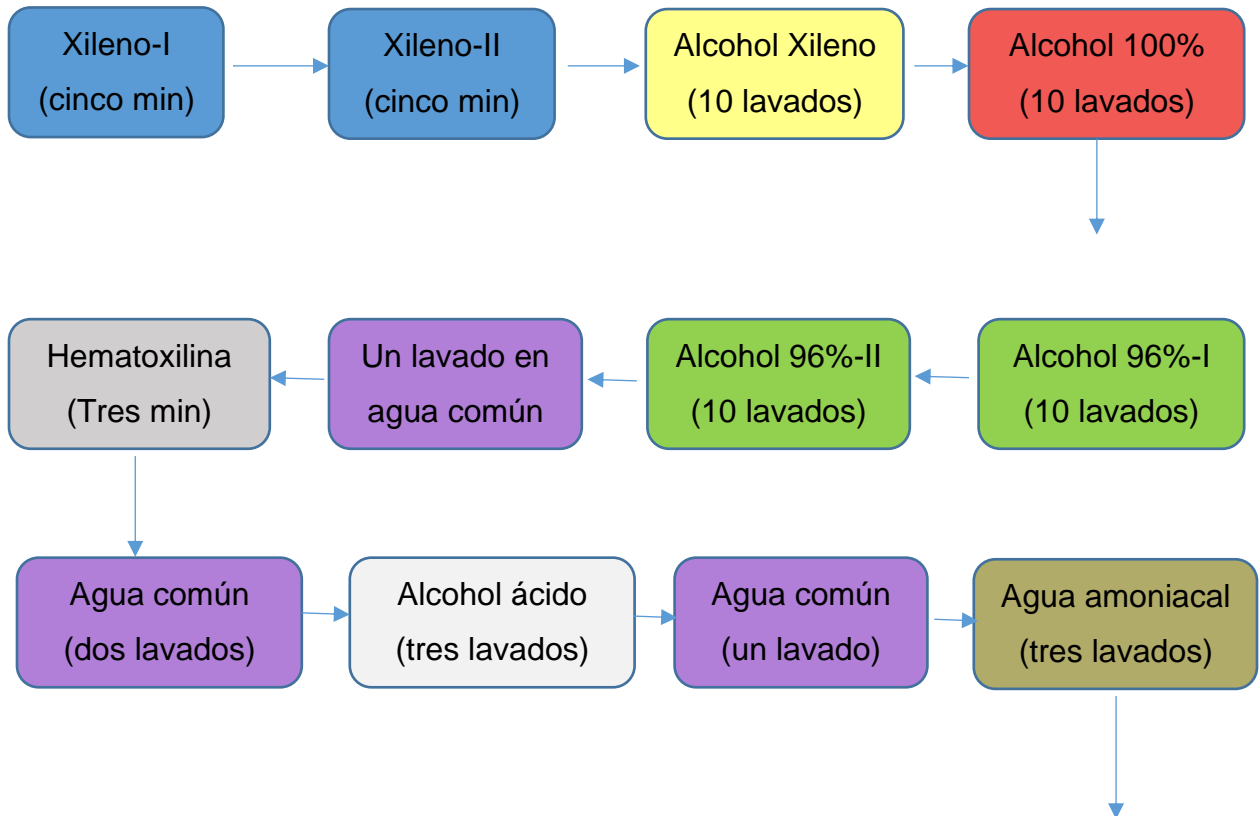


Figura 9: Procedimiento de deshidratación de las muestras

Para la fijación en parafina se usaron unas pequeñas bases de aluminios donde se colocaron los Cassettes con las muestras sobre las que se agregó la parafina caliente (Figura 10). Una vez solidificada la parafina, se obtuvo un pequeño cubo de parafina con la muestra en su interior (Figura 10). Las muestras embebidas en parafina se colocaron en un microtomo para realizar cortes de 5 μm de espesor. Los cortes fueron colocados con mucho cuidado dentro de una solución de agua, grenetina y alcohol (Figura 10) y se montaron sobre laminillas electrocargadas verificando su adecuada distribución. La fijación de la muestra en resina se realizó en el departamento de patología de la Facultad de Medicina de la UAEM. Las muestras montadas en las laminillas se sumergieron en distintos reactivos, dentro de una campana de extracción (Figura 12), de acuerdo al diagrama de flujo de la Figura 13. Una vez terminado este procedimiento la muestra se colocó en un microscopio para la obtención de la imagen de dicho corte.



Figura 10: En la izquierda equipo utilizado para colocar las muestras en parafina, en el centro las muestras de hueso en parafina, en la derecha el microtomo y la estufa de calentamiento



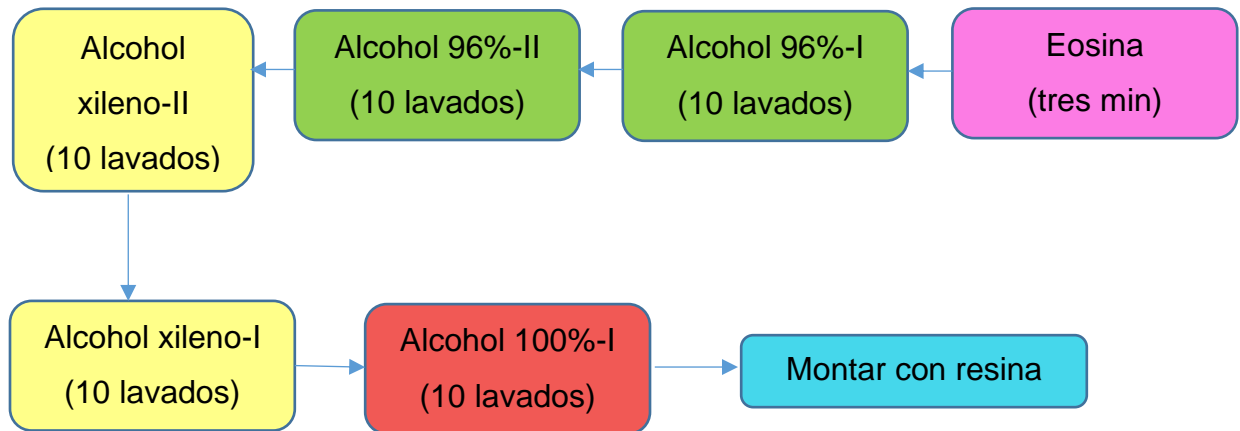


Figura 11: Procedimiento de hidratación y tinción de las muestras



Figura 12: Reactivos utilizados para fijación en resina

Una vez terminado este procedimiento la muestra se colocó en un microscopio para la obtención de la imagen de dicho corte.

4.5 Fracción de actividad depositada en cada compartimiento celular

Para determinar la fracción de energía depositada en cada compartimiento celular (membrana, citosol, núcleo) se utilizó el kit de extracción nuclear (2900, MerckMillipore, USA). A las células LNCaP, contenidas en un tubo de centrifuga, se les agregó 15 μ l de ^{225}Ac -iPSMA y se midió su actividad en un contador de pozo. El tubo se incubó durante al menos una hora a temperatura ambiente. Para eliminar el

exceso de radiofármaco, las células LNCaP en un tubo de centrifuga se lavaron con PBS frío. El tubo se colocó en una centrifuga a 250g por 5 minutos a una temperatura de 4°C. Posteriormente, se retiró el sobrenadante del tubo y se resuspendió el botón celular con 40 ml de PBS frío. Se volvió a centrifugar de la misma manera que se hizo anteriormente y se retiró el sobrenadante. El volumen restante del tubo se recuperó y la actividad en ese volumen se anotó. Se agregó búfer de lisis citoplásmico al botón y se resuspendió cuidadosamente. Se incubó por 15 minutos en hielo para posteriormente centrifugarlo de la misma manera. El sobrenadante se retiró y se resuspendió el botón celular en búfer de lisis citoplásmico.

Con una jeringa de calibre 27 se tomó la muestra del tubo y se soltó en el mismo, repitiendo el proceso 5 veces. El botón celular se centrifugó a 8000g por 20 minutos a 4°C. Se colocó el sobrenadante en otro tubo limpio, y se etiquetó como porción citosólica.

El botón celular se resuspendió en 2/3 partes del volumen original, previamente calculado. Con ayuda del búfer de extracción nuclear y con una jeringa de calibre 27 se tomó la muestra del tubo y se soltó en el mismo, repitiendo 5 veces hasta resuspender por completo el botón. La muestra se colocó en un agitador durante dos minutos y posteriormente se centrifugó a 16000g por 5 minutos a 4°C y se transfirió al sobrenadante a otro tubo limpio. El sobrenadante se transfirió a otro tubo limpio y se etiquetó como la porción nuclear.

Finalmente se midió la actividad en la porción citosólica y la porción nuclear, y se obtuvo la fracción de actividad depositada en cada compartimento respecto al valor inicial total.

4.6 Modelo biocinético

Se utilizaron tres ratones, por cada grupo, los cuales habían desarrollado metástasis óseas durante 4-6 semanas. Los ratones fueron inyectados intravenosamente con 300 μCi de ^{177}Lu -iPSMA, o con 15 μCi de ^{225}Ac -iPSMA. El primer ratón fue sacrificado una hora después de recibir la administración del radiofármaco, el resto de los ratones fueron sacrificados a las 4, 48, 96 y 192 horas. Para cada ratón se extrajo el hueso con metástasis, los riñones, el intestino, los pulmones, el bazo y el hígado y se

determinó la actividad en estos órganos con ayuda de un contador de pozo. Con los valores del porcentaje de actividad por gramo de órgano, obtenidas en la sección anterior, se construyeron curvas de actividad en función del tiempo para cada órgano. Con ayuda del software OLINDA el modelo radio-biocinético del ^{177}Lu fue ajustado de la siguiente manera:

$$A(t) = B e^{-(\lambda_{B1} + \lambda_R)} + C e^{-(\lambda_{B2} + \lambda_R)} + D e^{-(\lambda_{B3} + \lambda_R)} \quad 11$$

En la ecuación anterior las λ_B son las vidas medias biológicas y λ_R es la vida media física del radionúclido. El software OLINDA permitió obtener las constantes B, C, D, así como las lambdas biológicas de cada término exponencial. A partir de la ecuación anterior se obtuvo el número de desintegraciones totales o actividad acumulada para cada órgano mencionado de la siguiente manera:

$$N = \int_{t=0}^{t=\infty} A(t) dt \quad 12$$

Para el caso del ^{225}Ac se realizó el mismo tipo de ajuste exponencial que en la ecuación 11, donde la constante λ_R utilizada fue la del ^{225}Ac debido a que el análisis de la cadena de decaimiento de éste se simplificó suponiendo un equilibrio secular entre el núcleo padre y sus decaimientos.

4.7 Simulación Monte Carlo

Para estimar la dosis absorbida se determinaron factores de dosis con simulación Monte Carlo con el código MCNPX 5. La forma del hueso trabecular se simuló de forma cilíndrica, dentro del cual se consideraron cinco de los principales componentes del microambiente óseo (osteocitos, osteoblastos, osteoclastos, matriz ósea y células LNCaP, Figura 13). La geometría de las células LNCaP se asumió elipsoidal, con un tamaño de 6.7 μm de eje mayor y 3 μm de eje menor. Se supuso que este hueso trabecular tenía una densidad 1 g/cm^3 . Se consideró la distribución de la fuente homogénea y en la superficie de cada uno de los tres compartimientos celulares (núcleo, citoplasma y membrana) utilizando la información obtenida previamente con el kit de extracción nuclear. En todas las simulaciones se asumió un flujo inicial de 1×10^6 partículas. Para el ^{225}Ac , se calcularon primero las emisiones de partículas α , seguidas de los fotones y electrones, excepto en el caso del tumor donde sólo se

consideró la contribución de las partículas α ya que se asumió que esta fue mucho mayor que la de las otras partículas. Para el ^{177}Lu se consideraron los fotones y los electrones solamente. Aquellas emisiones con energías menores a 1 keV no fueron simuladas, ya que se supuso que su depósito de energía fue local. La energía depositada (MeV) por transformación nuclear y gramo de núcleo celular se convirtió a Grays por unidad de desintegración para obtener los valores DF.

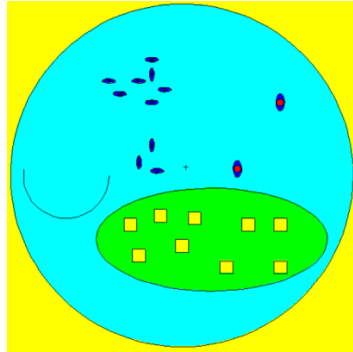


Figura 13: Microambiente óseo diseñado por MCNPX 5

4.8 Cálculo de la dosis absorbida

Para el caso del ^{177}Lu -iPSMA, la dosis absorbida al núcleo celular se calculó de la siguiente manera:

$$D_{n_f} = \sum_{f=1}^7 [\sum_{j=1}^2 N_j DF_{(n_f \leftarrow j)}]_f \quad 13$$

Donde D_{n_f} es la dosis absorbida (Gy) al núcleo celular f , N_j es el número de transformaciones nucleares en la región j dentro de la célula f y DF es la dosis absorbida por unidad de desintegración (Gy/Bq) originada en la región j de la célula f . Con lo anterior, la dosis promedio que recibieron los núcleos de las células de cáncer de próstata se obtuvo de la siguiente manera.

$$\overline{D_n} = \frac{D_{n_f}}{7} \quad 14$$

Para el caso del ^{225}Ac -iPSMA, se tomaron en cuenta las contribuciones en dosis obtenidas por las emisiones α , electrones y fotones, así como el valor del RBE, excepto para el tumor donde sólo se tomó en cuenta la contribución por emisiones de partículas α .

$$D_{n_f} = \sum_{f=1}^7 [RBE_{\alpha} \sum_{j=1}^2 N_j \sum_k b_k DF_{k(n_f \leftarrow j)}^{\alpha} + \sum_{j=1}^2 N_j \sum_k b_k DF_{k(n_f \leftarrow j)}^{e,ph}]_f \quad 15$$

Donde D_{n_f} es la dosis absorbida (Gy) al núcleo celular f , N_j es el número de transformaciones nucleares en la región j dentro de la célula f , $DF_{k(n_f \leftarrow j)}^{\alpha}$ es la dosis absorbida debida a emisiones α por unidad de desintegración (Gy/Bq) originada en la región j de la célula f , $DF_{k(n_f \leftarrow j)}^{e,ph}$ es la dosis absorbida debida a emisiones de electrones y fotones por unidad de desintegración (Gy/Bq) originada en la región j de la célula f , b_k es la fracción del decaimiento del radionúclido k y RBE_{α} es la eficiencia biológica relativa para partículas α .

La dosis promedio final que absorbieron los núcleos de las células metastásicas se calcularon también con la ecuación 14.

4.9 Biodistribución de los radiofármacos

Para determinar la biodistribución del ^{177}Lu -iPSMA y el ^{225}Ac -iPSMA dentro de los ratones se formaron cinco grupos con tres ratones cada uno. Los ratones fueron criados e inoculados como se mencionó previamente en la sección 4.4. La actividad inicial del radiofármaco preparado de acuerdo con lo explicado en la sección 4.1 y 4.2, se midió previo a ser administrado por vía intravenosa al ratón y posteriormente, se midió la actividad residual con ayuda de un contador de pozo (Figura 14). Después se dejó pasar una hora y se tomaron las imágenes de rayos x y radionuclídicas con el equipo Xtreme al primer grupo de ratones. Una vez obtenidas las imágenes, los ratones del primer grupo se sacrificaron utilizando cloroformo. Se extrajo la sangre del ratón con una jeringa y se midió su actividad y las cuentas por minuto (cpm). Después se extrajeron los siguientes órganos: pulmón, hígado, bazo, riñones, intestino, hueso sano (esqueleto) y hueso con metástasis. Se obtuvieron las cuentas por minuto de cada órgano con ayuda del contador Auto-in Vtron 4010 y al final se pesaron en una báscula (Figura 14).



Figura 14: En la izquierda el contador de pozo, en la derecha el equipo Auto-in Vtron 4010

Se retiró con cuidado el músculo de los dos huesos, el sano y el que poseía el tumor, hasta dejar expuesta la metáfisis y se colocaron en dos viales de 0.6 ml, que tenían un pequeño hoyo en el fondo. Estos viales se colocaron dentro de unos viales más grandes de 1.5 ml y se centrifugaron a 10 000 g durante 30 segundos. De esta manera se obtuvo la médula de ambos huesos, donde estaban contenidas las células tumorales, y a estos se les midieron las cpm

A las 4, 48, 96 y 192 horas posteriores a la administración del radiofármaco se repitió el procedimiento para los otros grupos de ratones, respectivamente. Los órganos fueron guardados en frascos con una solución fijadora de paraformaldehído amortiguado al 4% para su posterior análisis histológico siguiendo el procedimiento mencionado en la sección 4.4.1.

4.9.1 Verificación de la estabilidad del ^{225}Ac -iPSMA

Para la verificación de la estabilidad del ^{225}Ac -iPSMA se utilizaron tres ratones, criados bajo las condiciones mencionadas en la sección 4.4, a los cuales se les inyectaron en promedio 15 μCi de ^{225}Ac -iPSMA. A las 0, 24 y 96 horas; posteriores a la administración del radiofármaco, se tomaron imágenes de rayos X y radionuclídicas. Posteriormente, los ratones se sacrificaron utilizando cloroformo para obtener los siguientes órganos: corazón, pulmón, hígado, bazo, riñones, intestino, estómago, hueso sano y hueso con metástasis. Se obtuvo una imagen radionuclídica de todos los órganos juntos para visualizar la captación del radiofármaco en cada uno de estos.

Con el equipo Auto-in Vtron 4010 se obtuvieron las cuentas por minuto (cpm) tanto de la sangre como del resto de órganos obtenidos. El proceso se repitió para los otros dos ratones a los tiempos mencionados y se obtuvo una gráfica de la relación de la actividad entre órgano/sangre.

4.10 MIRDcell

Con ayuda del software MIRDcell v2.1 se analizó la eficiencia del ^{177}Lu y el ^{225}Ac para eliminar células tumorales, donde éstos fueron colocados en la membrana de estas células. Debido a que el software solo maneja geometrías esféricas, se supuso que el núcleo celular tenía un radio de $3\ \mu\text{m}$ y un tamaño total de $6\ \mu\text{m}$, así como una distancia entre células de $13\ \mu\text{m}$. Se tomaron dos regiones de prueba para analizar la cantidad de células vivas y muertas que habían después de que el 80% y 40% de ellas habían sido radiomarcadas. También se supuso que la actividad promedio por célula era de 1 Bq. Bajo las condiciones mencionadas se obtuvieron imágenes que mostraban para una población seleccionada, la cantidad de células muertas, vivas, radiomarcadas o no.

Capítulo 5

Resultados y discusión

5.1 Modelo intraóseo de metástasis ósea

El modelo de metástasis ósea se verificó a través de imágenes radioisotópicas con ^{99m}Tc -RGD (57), cuya diferencia en la captación de la articulación femurotibial fue un indicativo de la progresión de la metástasis.

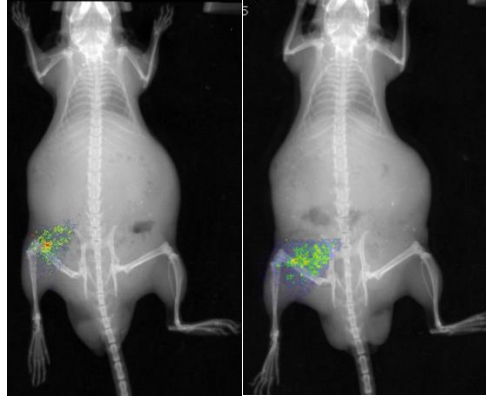


Figura 15: A la izquierda se muestra el ratón 2 semanas después de la inoculación, a la derecha se muestra el mismo a las 4 semanas, el punto rojo representa la mayor captación del radiofármaco ^{99m}Tc -RGD

En la Figura 15 se observa un incremento en la captación del radiofármaco en la articulación izquierda del ratón, relacionado con una progresión de la angiogénesis en esa zona, lo cual está ligado a la progresión de la masa tumoral (58). En estas imágenes se eliminó la captación del radiofármaco en la región de la vejiga debido a que producían interferencia en la región de la pata inoculada. Otro indicador del progreso de la metástasis se basó en el análisis visual del hueso inoculado, el cual tenía manchas negras y era más suave, con respecto al hueso sano.

Para corroborar el desarrollo de metástasis se realizó histología al hueso (Figura 16). La figura mostrada es de un corte longitudinal del hueso inoculado, obtenida con un aumento de 400x del microscopio.

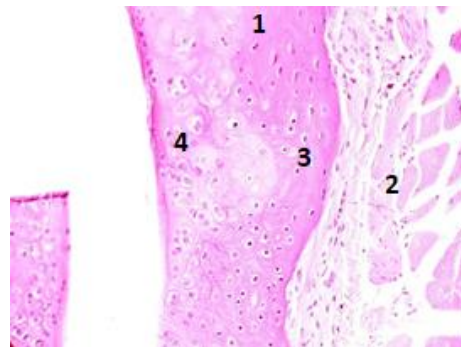


Figura 16: Corte de hueso con metástasis ósea obtenida con un aumento de 400x, donde se observa la matriz ósea (1) junto con osteocitos (3) y células tumorales (4). El hueso fue teñido con hematoxilina y eosina.

En la Figura 16 se resalta la matriz ósea de color rosa fuerte (1) en la región central, células tumorales (2) de mayor tamaño, osteocitos (3) dentro del osteoplasma y osteoblastos (4) (59). La médula ósea se muestra como un pequeño canal blanco del lado izquierdo de la figura. En esta figura se observa una gran diferencia en la estructura de las células de hueso normales, con respecto a las células tumorales cuyo tamaño es mayor y no tienen forma definida.

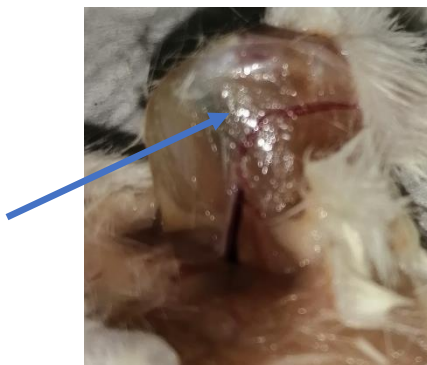


Figura 17: Tumor óseo en un ratón CD1 macho

En la Figura 17 se muestra el tumor desarrollado en la pata inoculada, el cual se resalta con una flecha. Su consistencia es más viscosa y blanda, con respecto al hueso sano.

5.2 Verificación de la estabilidad del ^{225}Ac -iPSMA

Para verificar que el radiofármaco ^{225}Ac -iPSMA se mantuviese estable en el tiempo se tomó una imagen radionuclídica de todos los órganos de interés, así como del hueso sano y el inoculado, y las cuales se obtuvieron inyectando $15\ \mu\text{Ci}$ de ^{225}Ac -iPSMA. Los órganos de interés, colocados en una caja de Petri, se muestran en la Figura 18.

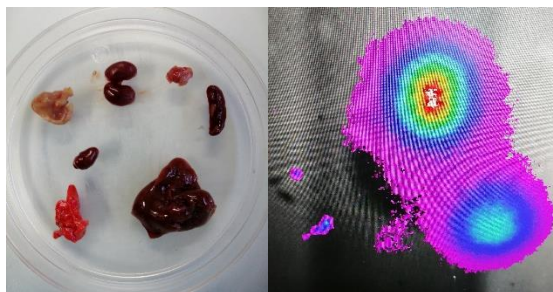


Figura 18: Órganos extraídos del tercer ratón a la izquierda, su imagen radionuclídica a la derecha

En la Figura 18 se observan los órganos extraídos del ratón, sacrificado 96 horas después de que se le administrara el radiofármaco. En la imagen radionuclídica se utiliza una escala de arcoíris donde las zonas de color rojo son las de mayor emisión de radiación y las de color magenta son las de menor emisión. Se puede ver en la figura que los órganos de mayor captación son los riñones y el hígado, lo cual es de esperarse pues son órganos encargados de filtrar las sustancias que llegan al cuerpo, aunque esto puede representar una limitante en un tratamiento. De hecho, Kratochwill & colegas (17) mencionan que el riñón es uno de los órganos limitantes en pacientes humanos, y que los daños renales pueden aparecer años después de recibir este tipo de tratamiento, pero debido al corto periodo de tiempo de sobrevivencia que usualmente tienen los pacientes, este daño puede no ser notable.

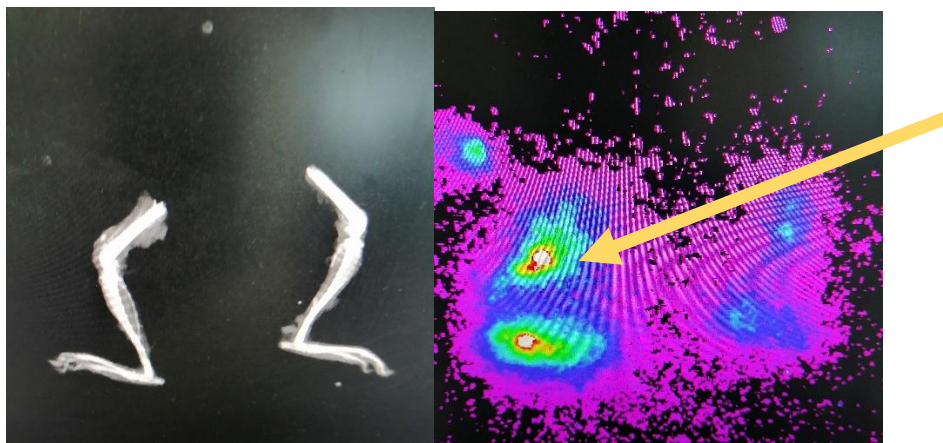
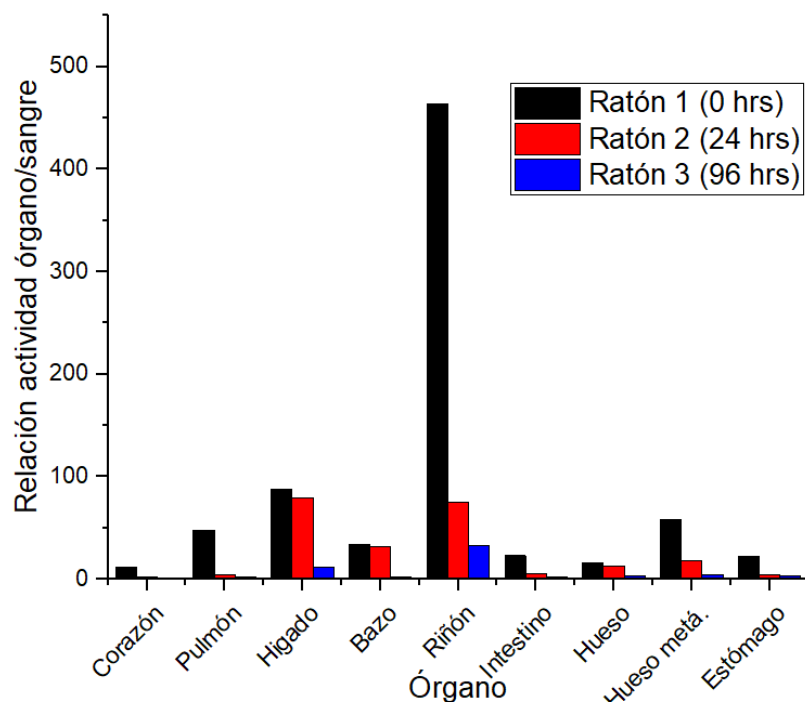


Figura 19: Captación del radiofármaco ^{225}Ac -iPSMA por las metástasis óseas. Imagen radionuclídica de las extremidades del ratón a las 96hrs posteriores a la administración del radiofármaco. La pata izquierda es aquella que presenta el tumor, mientras que la pata derecha está sana.

Adicionalmente, en la Figura 19 se muestra la imagen de rayos X y radionuclídica de los dos huesos, donde el hueso izquierdo fue inoculado con células LNCaP y el hueso de la derecha no. Con base en la escala de arcoíris mencionada se puede observar que existe una mayor captación en el hueso que fue inoculado, tal como se esperaba. En el periodo de tiempo en que el ratón tenía radiofármaco dentro de organismo no se observó ningún daño aparente en el mismo, mostrando que éste ratón toleró los efectos del radiofármaco.

La Gráfica 1 se muestra la relación de actividad del órgano/sangre para cada órgano obtenido y para los tres tiempos analizados: 0, 24 y 96 horas. En esta gráfica se

observó que el riñón tuvo la mayor captación del radiofármaco, puesto que se encarga de excretar las sustancias del cuerpo mediante orina, la cual es una de las principales vías de eliminación del radiofármaco. Así mismo, el hígado captó una gran cantidad del radiofármaco, ya que se encarga de filtrar las sustancias de la sangre. Respecto a esto, previamente Kratochwill & colegas (60) habían mencionado durante un tratamiento con ^{225}Ac -PSMA-617 que los riñones y el hígado debían ser vigilados para asegurar que no recibiesen un daño como consecuencia, sin embargo, concluyeron que en su estudio estos órganos no representaban una limitante para el tratamiento. Además, es necesario mencionar que el hueso con metástasis tuvo mayor captación que el hueso sano, siendo 3.6 veces mayor al tiempo 0, 1.4 veces al tiempo $t=24$ hrs y 1.3 al tiempo $t=96$ horas.



Gráfica 1: Relación de la actividad en órgano/sangre del radiofármaco ^{225}Ac -iPSMA en el tiempo.

Esta gráfica mostró que la captación en pulmón, bazo, intestino, estómago y corazón es muy baja, logrando minimizar el daño a estos órganos de riesgo. Conforme transcurre el tiempo la captación de estos órganos se vuelve despreciable, disminuyendo cualquier riesgo de daño importante. Esta gráfica es un buen indicador de que este tratamiento tiene una buena captación en el hueso con metástasis y que

en el resto de los órganos la eliminación del radiofármaco es adecuada, que en términos de protección radiológica es conveniente.

5.3 Modelos biocinéticos

El proceso de biodistribución del ^{177}Lu -iPSMA permitió obtener una tabla donde se muestra el porcentaje de dosis por órgano, los cuales se muestran en la Tabla 1. Todas las incertidumbres de los datos de las tablas posteriores se colocaron en el anexo 3.

Tabla 1: Porcentaje de dosis por órgano (MBq/h), en función de los cinco tiempos de biodistribución

Órgano	1 h	4 h	48 h	96 h	192 h
Pulmón	0.21750	0.11100	0.00150	0.00020	0.00050
Hígado	5.85900	3.5700	0.283500	0.08400	0.03150
Bazo	0.18810	0.12420	0.00990	0.00009	0.00001
Riñones	5.08800	3.15880	0.23320	0.03975	0.00795
Intestino	2.77448	2.66912	0.33364	0.03512	0.001756
Tumor	0.09030	0.08930	0.05590	0.03420	0.01040
Esqueleto	0.04180	0.03850	0.01210	0.00440	0.00110

Los datos de la tabla anterior se ingresaron al software OLINDA y el programa permitió determinar el modelo biológico de cada órgano. A cada modelo biológico se le sumó la constante de decaimiento física del radionúclido de interés (^{177}Lu o ^{225}Ac) en el exponente del término exponencial para poder obtener el modelo biocinético del radiofármaco. En la Tabla 2 se muestran los valores de las constantes B, C, D, λ_{B1} , λ_{B2} , λ_{B3} basados en la ecuación 11.

Tabla 2: Constantes de los modelos biológicos de los órganos

Órgano	B	C	D	λ_{B1} (h ⁻¹)	λ_{B2} (h ⁻¹)	λ_{B3} (h ⁻¹)
Pulmón	0.488	0.259	0.0154	20.6	0.242	0.0485
Hígado	4.71	2.15	0.202	0.263	0.0542	0.0103
Bazo	3.82	0.244	0.156	23.5	1.79	0.0576
Riñones	2.93	2.77	0.59	0.411	0.073	0.0286
Intestino	0.488	2.69	0.317	17	0.0427	0.0428
Tumor	4.24	0.277	0.646	22.2	0.0106	0.0106
Esqueleto	0.439	0.0103	0.0425	21.6	3.35	0.0253

Con los datos de la tabla anterior se pudieron obtener los modelos biocinéticos para el ¹⁷⁷Lu-iPSMA y el ²²⁵Ac-iPSMA en cada uno de los órganos mencionados. No obstante, a continuación, se muestra solamente el modelo biocinético de ambos radiofármacos para el tumor.

$$A(t) = 4.24e^{-22.204t} + 0.277e^{-0.015t} + 0.646e^{-0.015t} \quad 16$$

$$A(t) = 4.24e^{-22.203t} + 0.277e^{-0.014t} + 0.646e^{-0.014t} \quad 17$$

En la ecuación 16 se muestra el modelo biocinético del ¹⁷⁷Lu-iPSMA y en la ecuación 17 el modelo biocinético del ²²⁵Ac-iPSMA para el tumor. Como se puede observar los modelos biocinéticos de ambos son muy parecidos, debido a que la constante física de ambos radionúclidos no varía demasiado, siendo de $4.3467 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ para el ¹⁷⁷Lu y de $2.9113 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ para el ²²⁵Ac. Una vez obtenidos los modelos biocinéticos se determinaron el número de desintegraciones por MBq inyectado para cada radiofármaco a partir de la ecuación 12, cuyos valores se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Número de desintegraciones de los radiofármacos ¹⁷⁷Lu-iPSMA y ²²⁵Ac-iPSMA en cada órgano

Órgano	Desintegraciones N (MBqs/MBq) ^{177}Lu -iPSMA	Desintegraciones N (MBqs/MBq) ^{225}Ac -iPSMA
Pulmón	49.2	49.7
Riñones	2187.7	2242.4
Hígado	2452.8	2543.4
Bazo	101.4	103.6
Intestinos	2301.5	2373.9
Tumor	223.3	246.9
Esqueleto	52.5	55.1

Como se puede observar de la tabla anterior, los valores del número de desintegraciones entre ambos radiofármacos no variaron mucho. Además, se puede observar que la mayor captación de ambos radiofármacos fue en los riñones, debido a que su función es de filtrar los desechos en la sangre y el radiofármaco es inyectado en la vena de la cola del ratón, y es debido a esto que es importante asegurar que el radiofármaco pueda ser eliminado lo más rápido posible.

5.4 Dosis absorbida

La dosis absorbida en los órganos se calculó siguiendo el procedimiento especificado en la sección 4.8. En la Tabla 4 se muestran los DF utilizados para los cálculos con ^{225}Ac . Se consideró sólo el DF del órgano fuente como blanco, debido a que el alcance de las partículas alfa es de 100 μm en tejido blando por lo que se despreció la contribución entre distintos órganos.

En la Tabla 5, se muestran todos los DF utilizados para los cálculos con ^{177}Lu , en unidades de mSv/MBqs. Para estos cálculos se consideraron las contribuciones de depósito de energía de varios órganos fuente hacia un órgano blanco, incluyendo el caso donde el blanco también era fuente. En el caso del tumor, sólo se consideró el

caso donde el blanco era la fuente, debido a que el tumor fue desarrollado en la pata del ratón, suficientemente lejos del resto de los órganos, por lo que se despreció la contribución desde éstos. Además, se pudo observar que la contribución de los DF del ^{225}Ac es mucho mayor que la del ^{177}Lu , debido al tipo de partículas que ambos radionúclidos emiten. Con los datos de las tablas 3, 4 y 5 se calcularon las dosis a los órganos.

Tabla 4: Factores de dosis del ^{225}Ac , con unidades de mSv/MBq

Órgano	DF ^{225}Ac (mSv/MBqh)
Pulmón	9.41E5
Riñones	2.72E5
Hígado	4.72E4
Bazo	1.06E3
Intestinos	5.31E4
Tumor	6.7E6
Esqueleto	1.25E4

Tabla 5: Factores de dosis del ^{177}Lu , con unidades de mSv/MBq

Fuente	Pulmón	Intestino	Riñones	Hígado	Bazo	Esqueleto	Tumor
Blanco							
Pulmón	2.1E-1	3.3E-6	4.5E-6	6.1E-4	4.8E-6	1.1E-3	-
Intestino	3.2E-6	1.4E-2	4.8E-5	3.1E-5	6.8E-6	3.8E-6	-
Riñones	4.7E-6	4.8E-5	7.5E-2	4.8E-5	2.1E-4	5.6E-6	-
Hígado	6.3E-4	4.0E-5	5.1E-5	1.3E-2	9.6E-6	7.1E-5	-
Bazo	4.9E-6	7.4E-6	2.0E-4	9.6E-6	2.0E-1	4.1E-6	-
Esqueleto	1.1E-3	3.5E-6	5.1E-6	6.4E-5	3.9E-6	2.0E-2	-
Tumor	-	-	-	-	-	-	2.2E0

Tabla 6: Dosis absorbida en los órganos, debida al ^{177}Lu -iPSMA y al ^{225}Ac -iPSMA

Órgano	Dosis ^{177}Lu -iPSMA (mGy)	Dosis ^{225}Ac -iPSMA (mGy)
Pulmón	11.8	650.0
Intestino	31.7	1750.8
Riñones	164.6	8467.7
Hígado	32.8	1666.3
Bazo	20.9	1058.1
Esqueleto	1.28	9.6
Tumor	486.8	2296.3

Al comparar las dosis en el tumor entre ambos radiofármacos se observó que el ^{225}Ac -iPSMA produjo una dosis aproximadamente 5 veces mayor que el ^{177}Lu -iPSMA, lo cual se puede deber al RBE entre ambas partículas, y cuyo valor es mencionado por Sgouros & colaboradores (20). Esto implica que en un tratamiento con ambos radiofármacos se requeriría una dosis menor de ^{225}Ac -iPSMA para generar unos efectos similares al ^{177}Lu -iPSMA, ofreciendo una clara ventaja del primero con respecto al segundo para un tratamiento de metástasis óseas tal como mencionan Azorín & colegas (5), además de que el efecto del primero no se ve afectado por el grado de oxigenación de las células, tal como se menciona en el panfleto 22 del MIRD (61). Además, comparando los valores de la Tabla 6 con los resultados de la Gráfica 1 vemos que existe una correlación, siendo los riñones el órgano con mayor captación del radiofármaco y el que mayor dosis recibe. Este órgano podría ser un limitante para el tratamiento con ^{225}Ac -iPSMA debido al daño que podría producirle, no obstante, este radiofármaco solo se daría a un paciente si todos los demás tratamientos no funcionan, tal como lo plantea Kratochwill (17), por lo que este daño colateral podría ignorarse. También se puede observar de la Tabla 6 que para los riñones la razón de dosis entre ambos radiofármacos es de 51, una diferencia mucho mayor que con el tumor, lo cual puede deberse a que los riñones se componen de tejido más suave que el hueso y se ven afectados mayormente por las partículas alfa. No obstante, tal como se ve en la Gráfica 1 la eliminación biológica del radiofármaco es muy alta, siendo que en 24 horas se ha reducido la actividad en este órgano a un 20% aproximadamente,

por lo que probablemente el daño no sea grave. En este caso habría que considerar la aplicación simultánea de un radioprotector específico que evite la acumulación no selectiva del radiofármaco en el riñón.

5.5 MIRDcell

A continuación, se muestran los resultados obtenidos con el software MIRDcell, obtenidos conforme al procedimiento mencionado en la sección 4.10.

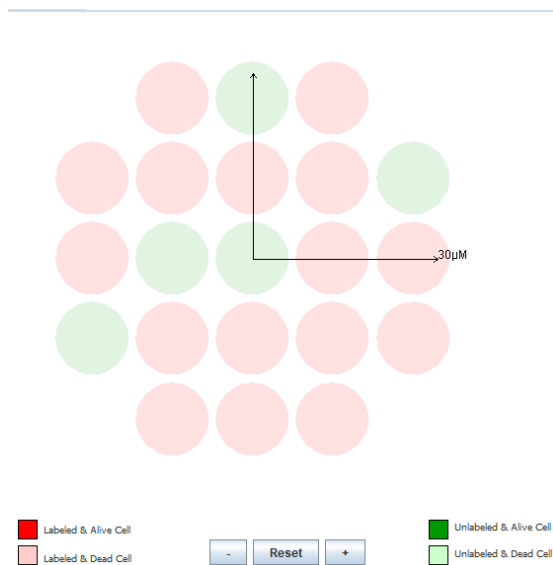


Figura 20: Colonia celular irradiada con ^{225}Ac , en una región de $30\ \mu\text{m}$, con 80% de las células radiomarcadas

En la Figura 20 se observan las células que hay en una región esférica de $30\ \mu\text{m}$ de radio, donde las células rosas fueron marcadas por el radiofármaco y murieron como consecuencia, y las células verdes no fueron marcadas pero también murieron debido a la radiación proveniente de las células contiguas rosas.

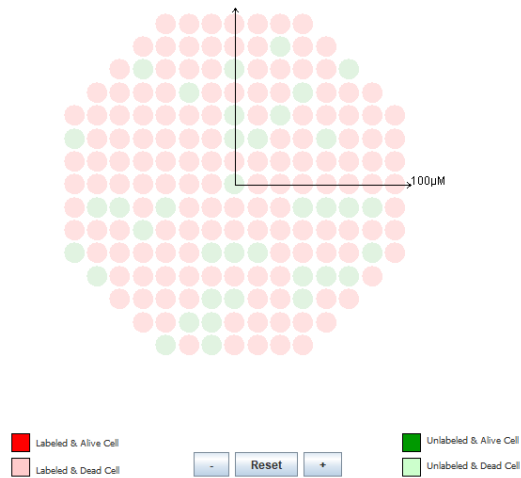


Figura 21: Colonia celular irradiada con ^{225}Ac , en una región de $100\ \mu\text{m}$, con 80% de las células radiomarcadas

En la Figura 21 se observa una misma colonia celular de mayor tamaño, pero con las mismas características que el caso anterior. Nuevamente se observa que no hay ninguna célula viva.

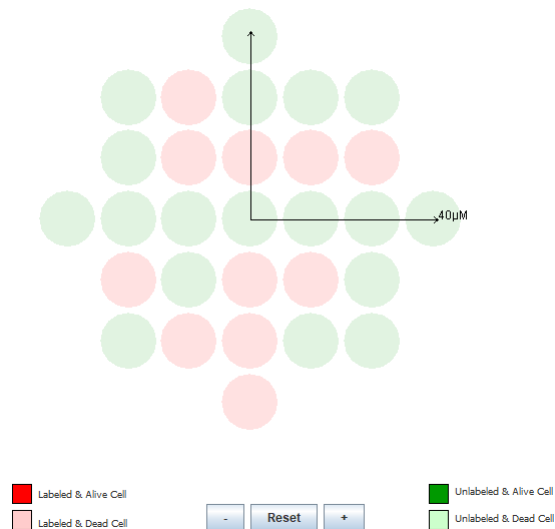


Figura 22: Colonia celular irradiada con ^{225}Ac , en una región de $40\ \mu\text{m}$, con 40% de las células radiomarcadas

En la Figura 22 se colocó la misma colonia celular, pero suponiendo que solo el 40% de las células estaban radiomarcadas. Aun así, se observa que todas las células están muertas. Esto se debe a que el alcance en tejido de las partículas alfa del ^{225}Ac es de unos $100\ \mu\text{m}$, por lo que en esta pequeña región todas las células se ven afectadas por la radiación emitida por el radiofármaco.

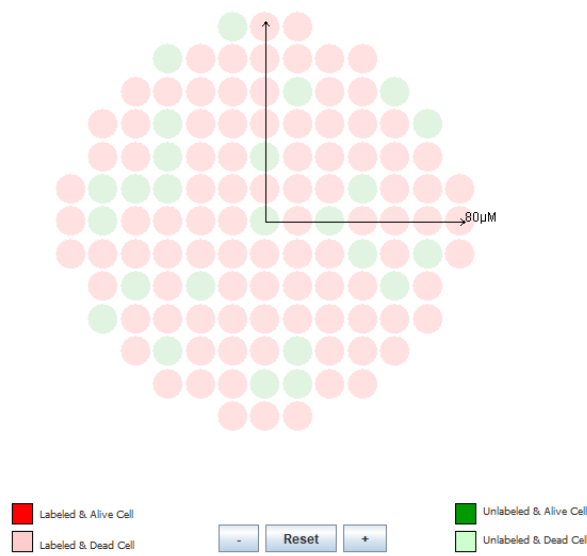


Figura 23: Colonia celular irradiada con ^{177}Lu , en una región de $80\ \mu\text{m}$, con 80% de las células radiomarcadas

En la Figura 23 se tiene la misma colonia, pero esta vez se simuló la administración del radiofármaco marcado con ^{177}Lu . Nuevamente se puede observar que todas las células están muertas, pero en el caso de las células no marcadas se debe a la irradiación de las células marcadas lejanas. Esto se debe a que el ^{177}Lu emite partículas beta y fotones que poseen un alcance mayor a las alfas, por lo que su depósito de energía se realiza mayormente en las células no adyacentes, pero debido al gran número de células de cualquier manera se logra que todas reciban radiación. Aunque en estas imágenes no se puede percibir, mientras mayor sea la cantidad de células radiomarcadas mayor será la dosis de radiación que absorban éstas. En la práctica, dependerá de la molécula trazadora la cantidad de células que sean radiomarcadas, pero como vimos de las figuras anteriores, aun con un bajo radiomarcado el ^{225}Ac es capaz de eliminar todas las células en el volumen visto.

Capítulo 6

Conclusiones

6.1 Conclusiones

Se logró desarrollar un modelo animal de metástasis ósea, con baja letalidad para los ratones utilizados, reproducible y que permite desarrollar los tumores desde las dos semanas de inoculación.

También se observó que dentro del periodo de tiempo comprendido para la evaluación de la estabilidad del ^{225}Ac -iPSMA el radiofármaco mantenía su forma original y tenía una buena captación en el hueso con metástasis, mientras que en el resto de los órganos la captación era baja, salvo en el hígado y los riñones, pero bastaron un par de días para eliminarlo completamente. Otra buena observación fue que bastó con una pequeña actividad de este radiofármaco (15 μCi) para obtener una buena captación del radiofármaco que se ve reflejada en una imagen de buena calidad adecuada para el diagnóstico y seguimiento de las metástasis óseas. Comparando la actividad inyectada entre el ^{225}Ac y el ^{177}Lu se observó que se requiere menor cantidad de ésta para poder obtener una buena imagen con el ^{225}Ac que con el segundo radionúclido.

Se observó que el órgano de mayor captación de ambos radiofármacos fueron los riñones, debido a que se encargan de filtrar la sangre, que es la vía de administración. También se observó que el ^{225}Ac -iPSMA produce una dosis aproximadamente 5 veces mayor que el ^{177}Lu -iPSMA, siendo de 2.3 Gy por MBq inyectado para el ^{225}Ac -iPSMA y de 0.5 Gy por MBq inyectado para el ^{177}Lu -iPSMA, por lo que se podría decir que el RBE es aproximadamente 5 para las partículas alfa, respecto a las partículas beta en este caso. Las ventajas del tratamiento con ^{225}Ac -iPSMA son que puede generar rompimientos de doble cadena en las células tumorales, es eficaz para destruir células tumorales hipóxicas porque su efecto es independiente de la oxigenación de éstas, puede producir radicales libres al interactuar con los tejidos y debido a su corto alcance se logra minimizar el daño a tejidos u órganos sanos circundantes.

6.2 Trabajo a futuro

En el trabajo actual no se pudo comparar la eficiencia de los radiofármacos estudiados con el del ^{223}Ra debido a que este último no estaba disponible, por lo que sería conveniente tener esto en cuenta para futuras referencias. Este trabajo estuvo pensado para poder comparar la eficiencia entre los dos radiofármacos utilizados, por lo que podrían utilizarse estos resultados para ayudar a crear una planificación para tratamientos con ^{225}Ac -iPSMA de metástasis óseas en México en el futuro.

Referencias bibliográficas

1. Mohler J, Bahnson R, Boston B, Busby J, D'Amico A, Eastham J, et al. Prostate cancer: Clinical practice guidelines in oncology™ [Internet]. Vol. 8, JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network. Harborside Press; 2010 [cited 2020 Jun 6]. p. 162–200. Disponible en: <https://jnccn.org/view/journals/jnccn/8/2/article-p162.xml>
2. Sato J, Suzuki K, Ishikawa H, Tanaka R, Nakamura M, Shino M. Evaluation of Efficacy and Side Effects after Administration of Radium Chloride ($^{223}\text{RaCl}_2$) Injection in Elderly Castration-Resistant Prostate Cancer Patients with Bone Metastases. 2019 [cited 2020 Jun 6]; Disponible en: <http://doi.org/10.5281/zenodo.3242328>
3. Müller C, Umbricht C, Gracheva N, Tschan V, Pellegrini G, Bernhardt P, et al. Terbium-161 for PSMA-targeted radionuclide therapy of prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* [Internet]. 2019 [cited 2020 Jun 6];46(9):1919–30. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00259-019-04345-0>
4. Umbricht C, Köster U, Bernhardt P, Gracheva N, Johnston K, Schibli R, et al. Alpha-PET for Prostate Cancer: Preclinical investigation using ^{149}Tb -PSMA-617. *Sci Rep* [Internet]. 2019 [cited 2020 Jun 6];9(1):17800. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41598-019-54150-w>
5. Rojas E, Aranda L, Azorín E, Ferro G, Nava M, Jiménez N. Assessment of the radiation absorbed dose produced by ^{177}Lu -iPSMA, ^{225}Ac -iPSMA and $^{223}\text{RaCl}_2$ to prostate cancer cell nuclei in a bone microenvironment model. *Appl Radiat Isot* [Internet]. 2019; Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2019.01.020>
6. Santos C, Ferro G, García F, Jiménez N, Ramírez G, Ocampo B, et al. ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-Lys(Nal)-Urea-Glu: Biokinetics, Dosimetry, and Evaluation in Patients with Advanced Prostate Cancer. *Contrast Media Mol Imaging*. 2018;2018.
7. Liberal F, Tavares A, Tavares J. Computational modeling of radiobiological effects in bone metastases for different radionuclides. *Int J Radiat Biol* [Internet]. 2017 [cited 2020 Jun 6];93(6):627–36. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09553002.2017.1294274>

8. ¿Qué es el cáncer? - Instituto Nacional del Cáncer [Internet]. [cited 2020 Jun 7]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>
9. Cáncer [Internet]. [cited 2020 Jun 7]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
10. El cáncer en el mundo y México [Internet]. [cited 2020 Jun 7]. Disponible en: <http://www.infocancer.org.mx/?c=conocer-el-cancer&a=estadisticas-mundiales-y-locales>
11. Zetter B. Angiogenesis and tumor metastasis [Internet]. Vol. 49, Annu. Rev. Med. 1998 [cited 2020 Jun 8]. Disponible en: www.annualreviews.org
12. Oyen W. Emerging Vistas in Alpha Therapy—PSMA and Soft-Tissue Metastases. J Med Imaging Radiat Sci [Internet]. 2019 [cited 2020 May 20];50(4):S47–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1939865419304151>
13. Haberkorn U, Eder M, Kratochwil C, Mier W, Stefanova M, Kopka K, et al. PSMA-Targeted Radionuclide Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer with ¹⁷⁷Lu-Labeled PSMA-617. J Nucl Med. 2016;57(8):1170–6.
14. Parker C, Pascoe S, Chodacki A, O’Sullivan J, Germá J, O’Byrne C, et al. A randomized, double-blind, dose-finding, multicenter, phase 2 study of radium chloride (Ra 223) in patients with bone metastases and castration-resistant prostate cancer. Eur Urol. 2013;63(2):189–97.
15. Nonnekens J, Chatalic K, Molkenboer J, Beerens C, Bruchertseifer F, Morgenstern A, et al. ²¹³Bi-Labeled Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeting Agents Induce DNA Double-Strand Breaks in Prostate Cancer Xenografts. Cancer Biother Radiopharm [Internet]. 2017 [cited 2020 Jun 6];32(2):67–73. Disponible en: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/cbr.2016.2155>
16. Bruchertseifer F, Mottaghy F, Verburg F, Haberkorn U, Apostolidis C, Giesel F, et al. ²²⁵Ac-PSMA-617 for PSMA-Targeted α -Radiation Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. J Nucl Med. 2016;57(12):1941–4.
17. Kratochwil C, Bruchertseifer F, Rathke H, Bronzel M, Apostolidis C, Weichert W, et al. Targeted α -therapy of metastatic castration-resistant prostate cancer with

- ^{225}Ac -PSMA-617: Dosimetry estimate and empiric dose finding. *J Nucl Med*. 2017;58(10):1624–31.
18. Sathekge M, Bruchertseifer F, Vorster M, Lawal I, Knoesen O, Mahapane J, et al. Predictors of overall and disease-free survival in metastatic castration-resistant prostate cancer patients receiving ^{225}Ac -PSMA-617 radioligand therapy. *J Nucl Med* [Internet]. 2020 [cited 2020 May 20];61(1):62–9. Disponible en: <http://jnm.snmjournals.org/lookup/doi/10.2967/jnumed.119.229229>
 19. Eisenlohr H. Introduction to radiological physics and radiation dosimetry. Vol. 38, International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part A. Applied Radiation and Isotopes. 2002. 163 p.
 20. Sgouros G, Hobbs R, Josefsson A. Dosimetry and Radiobiology of Alpha-Particle Emitting Radionuclides. *Curr Radiopharm* [Internet]. 2018 [cited 2020 Sep 29];11(3):209–14. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29697036/>
 21. Podgoršak E. Radiation physics for medical physicists. Springer; 2010. 745 p.
 22. Alaei P. Introduction to Health Physics: Fourth Edition. Vol. 35, Medical Physics. 2008. 5959–5959 p.
 23. Dash A, Pillai M, Knapp F. Production of ^{177}Lu for Targeted Radionuclide Therapy: Available Options. *Nucl Med Mol Imaging* (2010). 2015;49(2):85–107.
 24. Engle JW. The Production of Ac-225. *Curr Radiopharm*. 2018;11(3):173–9.
 25. Ruddy F, Dulloo A, Seidel J, Petrović B. Separation of the alpha-emitting radioisotopes actinium-225 and bismuth-213 from thorium-229 using alpha recoil methods. *Nucl Instruments Methods Phys Res Sect B Beam Interact with Mater Atoms*. 2004;213:351–6.
 26. Guseva L. Production of high-purity α -emitting ^{225}Ac and ^{213}Bi radionuclides for use in nuclear medicine. *Radiochemistry*. 2013;55(3):317–23.
 27. Cherry S, Sorenson J, Phelps M. *Physics in Nuclear Medicine*, ; 2012. Saunders: Philadelphia. 2012. 523 p.
 28. Hall E, Giaccia A. *Radiobiology for the radiologist*. 546 p.
 29. American Cancer Society. ¿Qué es el cáncer de próstata? [Internet]. [cited 2019 May 30]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-prostata/acerca/que-es-cancer-de-prostata.html>

30. Los Ríos E. Cáncer de próstata [Internet]. Vol. 68, Rev Mex Urol. 2008 [cited 2020 May 20]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/uro/ur-2008/ur084l.pdf>
31. Fernando J, Arcila U. Oncología La bioquímica del antígeno específico de próstata (AEP) y sus fracciones [Internet]. [cited 2019 May 30]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2008/myl083-4d.pdf>
32. Logothetis C, Lin S. Osteoblasts in prostate cancer metastasis to bone. Nat Rev Cancer [Internet]. 2005 [cited 2019 May 31];5(1):21–8. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nrc1528>
33. Giménez D. Bases celulares y moleculares de las metástasis óseas. 2017;1–61.
34. Rajasekaran A, Anilkumar G, Christiansen J. Is prostate-specific membrane antigen a multifunctional protein? [Internet]. Vol. 288, American Journal of Physiology - Cell Physiology. 2005 [cited 2020 May 20]. p. C975–81. Disponible en: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.00506.2004>
35. Holmes E. PSMA specific antibodies and their diagnostic and therapeutic use. Expert Opin Investig Drugs [Internet]. 2001 [cited 2019 May 30];10(3):511–9. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/13543784.10.3.511>
36. Mhawech P, Zhang S, Terracciano L, Sauter G, Chadhuri A, Herrmann F, et al. Prostate-specific membrane antigen (PSMA) protein expression in normal and neoplastic tissues and its sensitivity and specificity in prostate adenocarcinoma: an immunohistochemical study using multiple tumour tissue microarray technique. Histopathology [Internet]. 2007 [cited 2019 May 30];50(4):472–83. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2559.2007.02635.x>
37. Conde E, Guillermina D, Flores F. Preparación del radiofármaco ^{99m}Tc-HYNIC-[Lys 3]-BN [Internet]. [cited 2019 May 31]. Disponible en: https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/38/093/38093101.pdf
38. Sawyers C. Targeted cancer therapy. Nature [Internet]. 2004 [cited 2019 May 31];432(7015):294–7. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nature03095>
39. Valdespino M, Valdespino V. Terapias moleculares dirigidas en los pacientes con cáncer: logros y perspectivas [Internet]. Vol. 144. 2008 [cited 2020 Jun 24].

Disponible en: www.anmm.org.mx

40. Lewington V. Targeted radionuclide therapy for bone metastases [Internet]. Vol. 20, *European Journal of Nuclear Medicine*. Springer-Verlag; 1993 [cited 2020 Jun 14]. p. 66–74. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/BF02261248>
41. Bander N. Targeted systemic therapy of prostate cancer with a monoclonal antibody to prostate-specific membrane antigen. *Semin Oncol* [Internet]. 2003 [cited 2019 May 31];30(5):667–76. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093775403003580>
42. Eder M, Schäfer M, Bauder U, Hull W, Wängler C, Mier W, et al. ^{68}Ga -complex lipophilicity and the targeting property of a urea-based PSMA inhibitor for PET imaging. *Bioconjug Chem* [Internet]. 2012 [cited 2020 May 20];23(4):688–97. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bc200279b>
43. Luna M, Hernández T, Serrano L, Peña A, Soto A. Freeze-dried multi-dose kits for the fast preparation of ^{177}Lu -Tyr3-octreotide and ^{177}Lu -PSMA(inhibitor) under GMP conditions. *J Radioanal Nucl Chem*. 2017;314(3):2181–8.
44. Coleman R. Treatment of metastatic bone disease and the emerging role of radium-223 [Internet]. Vol. 46, *Seminars in Nuclear Medicine*. W.B. Saunders; 2016 [cited 2020 May 20]. p. 99–104. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000129981500135X>
45. Mundy G. Preclinical models of bone metastases. In: *Seminars in Oncology* [Internet]. 2001 [cited 2020 Jun 13]. p. 2–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093775401902258>
46. Cortina, Emeli; Calderon J. Modelos de experimentación para el estudio del tejido óseo. *Rev*. 2004;23(3):107–16.
47. Salo N, Cleave M, Bruchovsky N, Rennie P, Beraldi E, Sullivan L. A metastatic and androgen-sensitive human prostate cancer model using intraprostatic inoculation of LNCaP Cells in SCID Mice. *Br J Urol*. 1997;80(SUPPL. 2):238.
48. Singh AS, Figg WD. In vivo models of prostate cancer metastasis to bone. *J Urol*. 2005;174(3):820–6.
49. Simmons J, Hildreth B, Supsavhad W, Elshafae S, Hassan B, Dirksen W, et al. Animal Models of Bone Metastasis. *Vet Pathol*. 2015;52(5):827–41.

50. Lee D, Li M, Bednarz B, Schultz M. Modeling Cell and Tumor-Metastasis Dosimetry with the Particle and Heavy Ion Transport Code System (PHITS) Software for Targeted Alpha-Particle Radionuclide Therapy. *Radiat Res* [Internet]. 2018 [cited 2020 Jun 15];190(3):236. Disponible en: <https://bioone.org/journals/radiation-research/volume-190/issue-3/RR15081.1/Modeling-Cell-and-Tumor-Metastasis-Dosimetry-with-the-Particle-and/10.1667/RR15081.1.full>
51. Makrigiorgos G, Adelstein S, Kassis A. Limitations of conventional internal dosimetry at the cellular level. *J Nucl Med*. 1989;30(11):1856–64.
52. Bardies M, Chatal J. Absorbed doses for internal radiotherapy from 22 beta-emitting radionuclides: beta dosimetry of small spheres. *Phys Med Biol* [Internet]. 1994 Jun 1;39(6):961–81. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0031-9155/39/6/004>
53. Faraggi M, Gardin I, Stievenart J, Bok B, Le Guludec D. Comparison of cellular and conventional dosimetry in assessing self-dose and cross-dose delivered to the cell nucleus by electron emissions of ^{99m}Tc , ^{123}I , ^{111}In , ^{67}Ga and ^{201}Tl . *Eur J Nucl Med* [Internet]. 1998 [cited 2020 Jun 15];25(3):205–14. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s002590050218>
54. Tung C, Liu C, Wang J, Chang S. Calculations of cellular microdosimetry parameters for alpha particles and electrons. *Appl Radiat Isot*. 2004;61(5):739–43.
55. Wadas T, Pandya D, Sai K, Mintz A. Molecular targeted α -particle therapy for oncologic applications [Internet]. Vol. 203, *American Journal of Roentgenology*. American Roentgen Ray Society; 2014 [cited 2020 Jun 15]. p. 253–60. Disponible en: <http://www.ajronline.org/doi/10.2214/AJR.14.12554>
56. Dekempeneer Y, Keyaerts M, Krasniqi A, Puttemans J, Muyldermans S, Lahoutte T, et al. Targeted alpha therapy using short-lived alpha-particles and the promise of nanobodies as targeting vehicle [Internet]. Vol. 16, *Expert Opinion on Biological Therapy*. Taylor and Francis Ltd; 2016 [cited 2020 Jun 15]. p. 1035–47. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14712598.2016.1185412>

57. Wang F, Chen L, Zhang R, Chen Z, Zhu L. RGD peptide conjugated liposomal drug delivery system for enhance therapeutic efficacy in treating bone metastasis from prostate cancer. *J Control Release* [Internet]. 2014 Dec 28 [cited 2020 Oct 23];196:222–33. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365914006968>
58. Mitra A, Mulholland J, Nan A, McNeill E, Ghandehari H, Line B. Targeting tumor angiogenic vasculature using polymer-RGD conjugates. *J Control Release* [Internet]. 2005 [cited 2020 Oct 23];102(1):191–201. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016836590400450X>
59. Bases fisiológicas de la regeneración ósea I: Histología y fisiología del tejido óseo [Internet]. [cited 2020 Oct 23]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1698-69462006000100011
60. Kratochwil C, Bruchertseifer F, Rathke H, Hohenfellner M, Giesel F, Haberkorn U, et al. Targeted α -therapy of metastatic castration-resistant prostate cancer with ^{225}Ac -PSMA-617: Swimmer-Plot Analysis Suggests efficacy regarding duration of tumor control. *J Nucl Med* [Internet]. 2018 [cited 2020 Oct 23];59(5):795–802. Disponible en: <http://jnm.snmjournals.org>
61. Sgouros G, Roeske J, McDevitt M, Palm S, Allen B, Fisher D, et al. MIRD pamphlet No. 22 (Abridged): Radiobiology and dosimetry of α -particle emitters for targeted radionuclide therapy [Internet]. Vol. 51, *Journal of Nuclear Medicine*. 2010 [cited 2020 Oct 17]. p. 311–28. Disponible en: <http://jnm.snmjournals.org/cgi/doi/10.2967/jnumed.108.058651>

ANEXOS

Anexo 1: Acta de congreso



The Mexican Society of Irradiation and Dosimetry

CERTIFIES THAT

***M.A. Nava-Cabrera, E.P. Azorín-Vega,
R. Oros-Pantoja & L. Aranda-Lara***

Presented the paper **CÁLCULO DOSIMÉTRICO DEL ^{177}Lu - ^{225}Ac -iPSMA Y ^{225}Ac -iPSMA A NIVEL CELULAR EN UN MODELO DE METÁSTASIS ÓSEA** during the XX International Symposium on Solid State Dosimetry held online from December 7th to 11th, 2020.


Dr. Juan Azorín Nieto
SMID President


Dr. Hector R. Vega-Carrillo
Scientific Committee Chairperson

Anexo 2: Artículo publicado (no adjunto)

Anexo 3: Incertidumbres

En esta sección se colocaron las incertidumbres asociadas a los datos de las tablas mostradas en el capítulo 5.

Tabla 7.1: Porcentaje de dosis por órgano (MBq/h), en función de los cinco tiempos de biodistribución, incluyendo sus incertidumbres

Órgano	1 h	4 h	48 h	96 h	192 h
Pulmón	0.21750 ±0.0153	0.11100 ±0.0070	0.00150 ±0.0015	0.00020 ±0.0002	0.00050 ±0.0001
Hígado	5.85900 ±0.5887	3.5700 ±0.3259	0.283500 ±0.0630	0.08400 ±0.0210	0.03150 ±0.0210
Bazo	0.18810 ±0.0185	0.12420 ±0.0227	0.00990 ±0.0036	0.00009 ±0.0001	0.00001 ±0.00001
Riñones	5.08800 ±0.4718	3.15880 ±0.2677	0.23320 ±0.0106	0.03975 ±0.0239	0.00795 ±0.0027
Intestino	2.77448 ±0.0790	2.66912 ±0.1405	0.33364 ±0.1141	0.03512 ±0.0263	0.001756 ±0.0004
Tumor	0.09030 ±0.0493	0.08930 ±0.0454	0.05590 ±0.0299	0.03420 ±0.0186	0.01040 ±0.0069
Esqueleto	0.04180 ±0.0166	0.03850 ±0.0199	0.01210 ±0.0033	0.00440 ±0.0022	0.00110 ±0.0003

En la tabla 1.1 se observan las incertidumbres asociadas a cada valor de la tabla 1, como se puede ver para las incertidumbres asociadas a los valores de la última columna, en algunos casos la incertidumbre es tan grande como el valor al que se refiere, lo cual puede deberse a que ésta es demasiado pequeña para poder ser distinguida mejor por el equipo.

Tabla 8.1: Dosis absorbida en los órganos, debida al ^{177}Lu -iPSMA y al ^{225}Ac -iPSMA, con sus incertidumbres

Órgano	Dosis ^{177}Lu -iPSMA (mGy)	Dosis ^{225}Ac -iPSMA (mGy)
Pulmón	11.8	650.0

	± 0.303	± 0.001
Intestino	31.7	1750.8
	± 0.13	± 0.02
Riñones	164.6	8467.7
	± 0.16	± 0.08
Hígado	32.8	1666.3
	± 0.29	± 0.02
Bazo	20.9	1058.1
	± 0.044	± 0.021
Esqueleto	1.28	9.6
	± 0.001	± 0.001
Tumor	486.8	2296.3
	± 0.04	± 0.02

En la tabla 6.1 se observan las dosis absorbidas para ambos radiofármacos, con sus incertidumbres. En ningún caso las incertidumbres superan el 3% y en todos los casos la incertidumbre es mayor para el ^{177}Lu -iPSMA. Con estos datos se observa que la razón de dosis para el tumor es 4.72 ± 0.0004 .