

PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

ZKUŠENOSTI S PŘÍPRAVOU
⁶⁸Ga-PSMA-11MICHAL BUDINSKÝ^{a,d}, PETR VYŠINSKÝ^a,
ZDENĚK ŘEHÁK^b a JAN ADAM^{b,c}

^a Ústavní lékárna, Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno, ^b Oddělení nukleární medicíny, Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno, ^c ÚJV Řež, a. s., Divize Radiofarmaka, Hlavní 130, 250 68 Husinec-Řež, ^d Masarykova univerzita, Farmaceutická fakulta, Ústav aplikované farmacie, Palackého třída 1946/1, 612 00 Brno
Jan.Adam@ujv.cz

Došlo 7.2.22, přepracováno 15.8.22, přijato 16.8.22.

Klíčová slova: ⁶⁸Ga-PSMA-11, karcinom prostaty, radiofarmacie, nukleární medicína• <https://doi.org/10.54779/chl20220746>

Úvod

Prostatický specifický membránový antigen (PSMA), jinak také nazývaný glutamátcarboxypeptidasa II, představuje medicínsky velmi zajímavou molekulu, jež je zejména v posledních přibližně deseti letech v popředí zájmu výzkumníků. V současnosti lze konstatovat, že tento enzym představuje vysoce specifický nádorový marker pro karcinom prostaty s jasnou korelací k agresivitě nádoru a prognostickými možnostmi. Mimoto se stále jasněji prokazuje jeho vztah k angiogenezi většiny solidních tumorů^{1,2} a dokonce i k post-iktovým neurologickým stavům³.

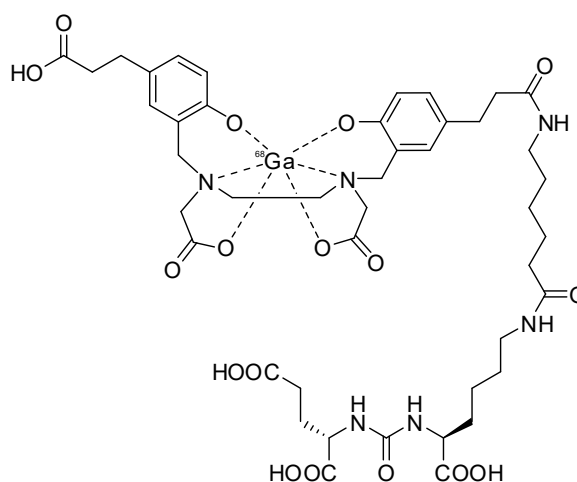
Z toho důvodu je velmi žádoucí přítomnost PSMA zobrazovat metodami nukleární medicíny. Nejpraktičtější cestou je vývoj oligopeptidových inhibitorů tohoto antigenu a jejich značení pomocí radioizotopů. Nejčastěji jsou inhibitory PSMA značeny izotopem gallia-68. Diagnostických uplatnění inhibitorů značených galliem-68 je popsáno již poměrně hodně, kromě karcinomu prostaty^{4–7} také např. pro hepatocelulární karcinom^{8,9}, gliomy¹⁰, karcinom prsu¹¹, karcinom pankreatu¹² a další. Intenzivně jsou vyvíjeny varianty značené nejrozšířenějším radionuklidem pro pozitronovou emisní tomografii (PET), fluorem-18 (cit.^{13–15}), popsáno je i značení pomocí technecia-99m (cit.¹⁶) pro metodu jednofotonové emisní tomografie (SPECT). V kombinaci s luteciem-177 a nově také, zatím ve výzkumné fázi, například aktiniem-225 nebo bismutem-213 se dalších inhibitorů PSMA využívá pro radioterapii^{17,18} či v teranostice¹⁹.

V této práci byl ke značení použit radionuklid gallia-68 (s poločasem přeměny 68 minut) získávaný elucí z komerčně dostupného radionuklidového generátoru v podobně gallitého kationtu, který byl přes chelatační agens HBED (*N,N'*-bis(2-hydroxybenzyl)ethylendiamin-*N,N'*-dioctová kyselina) navázán na inhibitor označovaný jako PSMA-11, jehož strukturu ukazuje obr. 1.

Vzhledem k prodlužující se očekávané době dožití je karcinom prostaty stále významnější zdravotní komplikací u mužské populace. Incidence strmě stoupá s věkem. Za rok 2015 bylo v České republice zaznamenáno více než 5300 případů²⁰, díky dokonalejší diagnostice a stárnutí populace mohou být nyní roční přírůstky ještě vyšší.

Klasická pozitronová radiofarmaka jsou produkována výrobci disponujícími urychlovači a výrobními zařízeními a k použití jsou dodávána již ve finální lékové formě. V tomto případě je radiofarmakum připravováno na úseku přípravy radiofarmak Ústavní lékárny ze dvou komponent – radionuklidového generátoru coby zdroje pozitronového radionuklidu a sterilního peptidového kitu pro přípravu radiofarmaka, podobně jako je tomu třeba u konvenčních radiofarmak značených techneciem-99m pro scintigrafii nebo SPECT. Použití takového pozitronového radiofarmaka tedy není závislé na bezprostřední dodávce od výrobce, ale může být připraveno dle potřeby přímo nemocnicí za předpokladu, že k tomu má odpovídající vybavení a povolení.

V našem případě se jednalo o přípravu radiofarmaka v režimu specifického léčebného programu (SpLP), který umožňuje finální radiofarmakum připravovat ze dvou komponent bez nutnosti toho, aby byly obě registrované. V tomto případě je registrován radionuklidový generátor,

Obr. 1. Strukturální vzorec ⁶⁸Ga-PSMA-11

zatímco použitý kit pro přípravu radiofarmaka je neregistrovaný.

Cílem tohoto sdělení je popsat nejen samotnou přípravu a hodnocení jakosti radiofarmaka ^{68}Ga -PSMA-11 v obecné rovině, ale také zhodnotit technologické zkušenosti s tímto radiofarmakem na pracovišti Ústavní lékárny Masarykova onkologického ústavu, Žlutý kopec 7, Brno.

Experimentální část

Reagencie

Radionuklidový generátor Gallipharm 1,48 GBq (Eckert & Ziegler Radiopharma GmbH, Berlín, Německo), sterilní roztok ultračisté kyseliny chlorovodíkové ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) k eluci z radionuklidového generátoru, PSMA-11 sterile cold kit configuration A – 25 μg (Advanced Nuclear Medicine Ingredients, Herstal, Belgie).

K ředění radiofarmaka je využíván infuzní roztok chloridu sodného ve vodě Ardeaelytosol F 1/1 9 g l^{-1} (Ardeapharma, Ševětín, Česká republika).

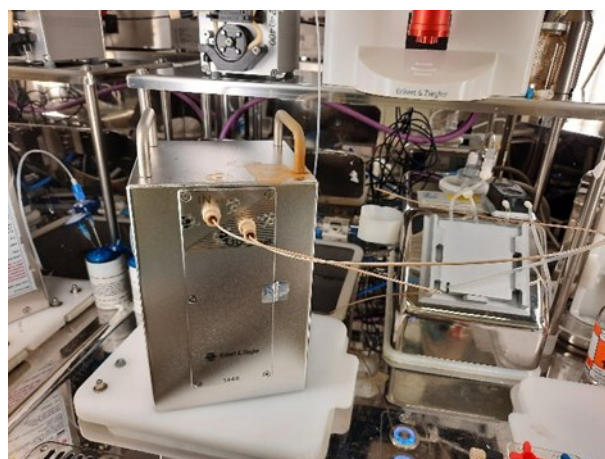
Jako spotřební materiál jsou využívány kanyly k eluci z radionuklidového generátoru, injekční jehla Sterican (BBraun, Melsungen, Německo), membránový filtr Millex-GS Filter Unit $0,22 \mu\text{m}$ (Merck, Darmstadt, Německo), injekční stříkačka Inject-F Luer Duo (BBraun, Melsungen, Německo), injekční stříkačka BD Plastipak (Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA), bezjehlový prepouštěcí adaptér Needleless Transfer Device (Emergo Europe, Haque, Nizozemsko).

K hodnocení jakosti radiofarmaka je využíván jako stacionární fáze chromatografický papír se skleněnými vláknami iTLC-SG (Agilent Technologies, Santa Clara, USA), jako mobilní fáze roztok octanu amonného (VWR chemicals, Radnor, USA) ve vodě (77 g l^{-1}) smíšený s methanolem (VWR chemicals, Radnor, USA) v poměru 1:1 v/v. Ke stanovení hodnoty pH jsou využívány indikátorové proužky MQuant (Merck, Darmstadt, Německo).

Příprava radiofarmaka

Jako zdrojový materiál pro přípravu radiofarmaka je využit radionuklid gallium-68 v podobě ^{68}Ga chloridu gallitého v prostředí kyseliny chlorovodíkové získaný elucí z radionuklidového generátoru pomocí roztoku kyseliny chlorovodíkové ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) a dále peptid PSMA-11, který je dostupný jako léčivý přípravek v podobě kitu pro přípravu radiofarmaka. Tento kit se skládá ze tří injekčních lahviček – sterilní injekční lahvičky s 25 μg peptidu PSMA-11, sterilní injekční lahvičky s 2,5 ml octanového pufru ($0,2 \text{ mol l}^{-1}$, pH 3,7–5,6) a sterilní evakuované injekční lahvičky pro eluci z generátoru. Radionuklidový generátor je zobrazen na obr. 2.

Příprava radiofarmaka PSMA-11 značeného galliem-68 probíhá za aseptických podmínek v souladu s požadavky souhrnu údajů o přípravku a požadavky správné radiofarmaceutické praxe. Představuje technologické operace v podobě získu radionuklidu gallia-68 elucí z radionu-



Obr. 2. Radionuklidový generátor Gallipharm

dového generátoru a jeho využití k radionuklidovému značení peptidu PSMA-11 za vhodných reakčních podmínek. Následně je připravené radiofarmakum podrobeno hodnocení jakosti a propuštěno k aplikaci. Po propuštění radiofarmaka k aplikaci je radiofarmakum rozplněno do stíněné injekční stříkačky s využitím zařízení $\mu\text{DDS-A}$ (Tema Sinergie, Faenza, Itálie) pro instrumentální přípravu radiofarmaka. Připravená injekční stříkačka s radiofarmakem je opatřena signaturou a předána k aplikaci pacientovi.

Z injekčních lahviček kitu se odstraní uzávěry, povrch lahviček se otre antiseptikem k dezinfekci povrchu. Po oschnutí antiseptika se umístí bezjehlový prepouštěcí adaptér na sterilní injekční lahvičku s octanovým pufrům a zatlačením se propíchně její septum. Takto připravená injekční lahvička s bezjehlovým adaptérem se obrátí dnem vzhůru a nasadí se na sterilní injekční lahvičku s obsahem peptidu PSMA-11 a zatlačením se propíchně její septum. Octanový pufr vteče do lahvičky s peptidem PSMA-11. Jemným krouživým pohybem se obsah důkladně promíchá. Po připojení injekční stříkačky na boční ventil adaptéru se odebere obsah injekční lahvičky. K prázdné evakuované injekční lahvičce se pomocí sterilní jehly potažené silikonem a membránového filtru připojí výstupní linka radionuklidového generátoru. Generátor se propláchně pomocí peristaltické pumpy 5 ml sterilního roztoku ultračisté kyseliny chlorovodíkové ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) přímo do sterilní evakuované injekční lahvičky. Na konci eluce se odpojí generátor od sterilní injekční lahvičky s obsahem eluátu ^{68}Ga chloridu gallitého vytažením jehly ze septa a přidá se 2,5 ml reakčního pufru smíchaného s peptidem PSMA-11. Takto připravená injekční lahvička se ponechá v klidu inkubovat po dobu 5 minut při laboratorní teplotě.

U připraveného radiofarmaka se stanoví jeho aktivita v becquerelech ($1 \text{ Bq} = 1$ radioaktivní přeměna za sekundu). Pomocí manipulátorů se přesune injekční lahvička do komory měřidla aktivity, odečte se naměřená hodnota aktivity a vytiskne se identifikační štítek, který se nalepí do protokolu o přípravě radiofarmaka.

Hodnocení jakosti radiofarmaka

U připraveného radiofarmaka se hodnotí vzhled, hodnota pH a efektivita značení.

Vzhled radiofarmaka se hodnotí vizuální kontrolou. Roztok musí být bezbarvý až slabě nažloutlý prakticky bez viditelných částic.

Hodnota pH se stanovuje pomocí indikátorových proužků k měření pH. Na indikátorový proužek se nanese injekční stříkačkou kapka vzorku. Změna zabarvení indikátorového proužku s naneseným vzorkem je srovnána s referenční stupnicí. Požadovaná hodnota pH je v rozsahu 4–5.

Efektivita značení se hodnotí metodou tenkovrstvé chromatografie. Stanovuje se množství koloidního gallia-68. Vyvíjecí komora se připraví nalitím mobilní fáze do výšky 3 až 4 mm. Analyzovaný vzorek radiofarmaka se nanese na proužek chromatografického papíru pomocí injekční stříkačky 1 cm od dolního okraje (zachyceno na obr. 3) a vloží se do vyvíjecí komory. Poté, co čelo mobilní fáze vystoupá až na 1 cm od horního okraje, se proužek chromatografického papíru vyjme z komory, osuší a následně analyzuje s využitím skeneru MiniScanPRO (Eckert & Ziegler Radiopharma GmbH, Berlín, Německo). Maximální množství nečistot je do 5 % v podobě koloidního gallia-68.

Výsledky

Za období březen 2021 až listopad 2021 bylo na našem pracovišti uskutečněno 30 příprav ^{68}Ga -PSMA-11 pro 56 pacientů. Přípravou radiofarmaka se rozumí získání radio-nuklidu elucí z generátoru, následné radionuklidové značení peptidu vedoucí ke vzniku radiofarmaka, hodnocení parametrů jakosti radiofarmaka a příprava aplikační dávky pro konkrétního pacienta. Výťažnost jednotlivých syntéz, časová náročnost syntéz a aktivita aplikovaného radiofarmaka jsou zachyceny v tab. I. Časovou náročností syntézy se zde rozumí celkový čas od zahájení eluce z generátoru



Obr. 3. Analýza vzorku radiofarmaka

po ukončení kontroly jakosti radiofarmaka a jeho propuštění k aplikaci pacientovi. Nezahrnuje tedy čas spojený s přípravou aplikační dávky pro konkrétního pacienta.

Součástí každé přípravy radiofarmaka ^{68}Ga -PSMA-11 je hodnocení jakosti. Výsledky hodnocení jakosti radiofarmaka – radiochemická čistota (tedy procento obsahu radioizotopu vázaného v požadované formě proti celkovému obsahu radioizotopů) a pH jsou zachyceny také v tab. I.

Z celkem 30 příprav tohoto radiofarmaka bylo na základě vyhodnocení jakosti ve všech případech radiofarmakum propuštěno k aplikaci.

Diskuse

Z každé připravené šarže bylo radiofarmakum aplikováno jednomu nebo dvěma pacientům, v závislosti na výťažnosti syntézy, potažmo množství aktivity získané při dané eluci z generátoru. Na základě našich praktických zkušeností lze konstatovat, že z hlediska technologické (časové a instrumentální) náročnosti je příprava ^{68}Ga -PSMA-11 srovnatelná s přípravou konvenčních diagnostických radiofarmak značených techneciem-99m a indiem-111.

Jak je patrné z tabulky, výtěžnost eluce z generátoru byla trendově stabilní s ohledem na postupný pokles celkového množství získané aktivity radionuklidu klesající s dobou používání generátoru. Úspěšnost přípravy byla 100% (30 ze 30), a tedy taktéž srovnatelná s konvenčními výše zmíněnými látkami. První příprava tohoto radiofarmaka byla určena pouze pro jednoho pacienta, proto zde není uvedena druhá aplikovaná dávka. V pozdějších elucích již nebylo získáno dostatečné množství aktivity v eluátu, aby bylo možné připravit dvě dávky k aplikaci pacientovi. Z tohoto důvodu není ani u elucí č. 28, 29 a 30 druhá aplikovaná dávka uvedena.

Dalším sledovaným parametrem byla celková doba přípravy. I v tomto případě bylo množství času potřebné k přípravě napříč syntézami stabilní, se dvěma výjimkami. Jednalo se o přípravy č. 9 a 20. Zvýšená časová náročnost byla způsobena zácvikem nových pracovníků a nutností zopakovat hodnocení jakosti radiofarmaka pro nevyhovující výsledky první kontroly kvality. Na základě výsledků hodnocení jakosti radiofarmaka získaných zopakováním kontrolní metody bylo radiofarmakum i v těchto dvou případech vyhodnoceno jako vyhovující a propuštěno k aplikaci pacientovi. V případě přípravy č. 20 vyústilo zdržení v pokles aktivity, v jehož důsledku bylo nutné druhému pacientovi podat poměrově nižší aktivitu než u ostatních příprav. I přesto byla tato nižší dávka (81 MBq, přibližně 60 % standardně aplikované dávky) aplikujícím lékařem akceptována a podána pacientovi za účelem vyšetření (standardní aplikovaná dávka radiofarmaka 150–200 MBq).

V neposlední řadě pak byly u všech příprav monitorovány parametry jakosti v podobě radiochemické čistoty a hodnoty pH. Zde je zřejmé, že oba parametry byly napříč syntézami stabilní, nezávisle na stáří generátoru.

Tabulka I
Souhrnné informace o provedených přípravách radiofarmaka ^{68}Ga -PSMA-11

Pořadí syntézy	Výtěžnost syntézy [MBq]	Časová náročnost syntézy [min]	pH	Radiochemická čistota [%]	Aplikovaná aktivita 1 [MBq]	Aplikovaná aktivita 2 [MBq]
1	835	35	4,3	98,45	180	–
2	875	35	4,2	99,75	187	184
3	735	30	4,0	98,52	177	176
4	709	32	4,0	99,39	181	178
5	745	35	4,2	98,75	180	165
6	697	35	4,3	99,34	172	182
7	717	39	4,0	99,36	174	170
8	689	41	4,0	99,28	183	150
9	642	67	4,5	99,17	145	154
10	648	43	4,2	99,31	169	159
11	666	39	4,0	99,75	151	162
12	642	35	4,1	99,04	166	177
13	672	35	4,5	99,34	169	175
14	664	31	4,3	98,89	179	175
15	671	29	4,7	99,17	175	180
16	657	39	4,5	99,71	180	160
17	596	28	4,3	99,30	182	176
18	597	28	4,5	99,09	181	177
19	578	24	4,7	99,15	161	170
20	527	53	4,5	99,27	156	81
21	549	40	4,2	99,76	149	130
22	551	33	4,5	99,40	160	144
23	542	26	4,3	99,39	179	143
24	490	34	4,0	99,16	147	137
25	580	24	4,5	99,10	158	176
26	550	30	4,5	99,12	160	178
27	540	29	5,0	99,47	163	166
28	424	34	4,2	99,70	150	–
29	414	37	4,2	99,51	186	–
30	503	30	4,0	99,38	165	–
Průměr	*	35 ± 5	$4,3 \pm 0,2$	$99,27 \pm 0,23$	169 ± 11	163 ± 16

* Vzhledem k přirozeně klesající výtěžnosti eluce generátoru v čase jeho životnosti průměrování hodnot postrádá smysl

Na základě výše uvedeného můžeme říct, že dostupnost radionuklidu gallia-68 získaného elucí z registrovaného radionuklidového generátoru a peptidu PSMA-11 ke značení tímto radionuklidem v podobě kitu pro přípravu radiofarmaka umožňuje při vybavení pracoviště potřebnou technologií pro přípravu radiofarmak pro PET toto radiofarmakum poměrně snadno připravit a zařadit tak do programu pracoviště. Nicméně je nutné počítat s investicemi do zařízení kontroly kvality v souladu s požadavky Státního ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL) a periodickým obnovením, respektive zakoupením nového generátoru vždy

v horizontu jednoho roku, což může být pro některá pracoviště limitujícími faktory. Pořizovací cena generátoru představuje cca 2 mil. Kč, kitu pro přípravu radiofarmaka cca 35 tis. Kč, laboratorní vybavení v podobě laminárního boxu cca 5 mil. Kč.

Z těchto důvodů bude toto radiofarmakum i v budoucnosti pro většinu českých pracovišť spíše hůře dostupné. Jistým řešením by mohlo být PSMA-11 značené dostupnějším diagnostickým radionuklidem (fluorem-18 nebo techneciem-99m).

Závěr

V rámci příprav radiofarmaka ^{68}Ga -PSMA-11 jsme demonstrovali reprodukovatelnost a spolehlivost metod přípravy této substance používané pro diagnostiku karcinomu prostaty pomocí metody PET. V zahraničí jsou tato radiofarmaka značená galliem-68 pro diagnostiku a luteci-177 (případně bismutem-213 a aktiniem-225) pro následnou terapii využívána již několik let, pro nás jsou to však stále ještě nová a až na výjimky prakticky neprozkoumaná radiofarmaka. ^{68}Ga -PSMA-11 v rámci specifického léčebného programu je prozatím jediným dostupným radiofarmakem v indikaci karcinomu prostaty, které je možno připravovat na úseku přípravy radiofarmaka nezávisle na cyklotronu a výrobcích klasických radiofarmak pro PET, a umožňuje uskutečnit alespoň diagnostiku bez následného pokračování v terapii radiofarmakem. Širší dostupnost však limituje finanční náročnost na vybavení pracoviště radionuklidovým generátorem, ale i potřebnou technologií pro přípravu a hodnocení jakosti radiofarmak značených galliem-68.

LITERATURA

1. Van de Wiele C., Sathekge M., de Spiegeleer B., De Jonghe P. J., Debruyne P. R., Borms M., Beels L., Maes A.: *Histol. Histopathol.* **35**, 919 (2020).
2. Vornov J. J., Peters D., Nedelcovych M., Hollinger K., Rais R., Slusher B. S.: *Neurochem. Res.* **45**, 1256 (2020).
3. Noto B., Vrachimis A., Schäfers M., Stegger L., Rahbar K.: *Clin. Nucl. Med.* **41**, e449 (2016).
4. García Garzón J. R., de Arcocha Torres M., Delgado-Bolton R., Ceci F., Alvarez Ruiz S., Orcajo Rincón J., Caresia Aróztegui A. P., García Velloso M. J., García Vicente A. M.: *Rev. Esp. Med. Nucl. Imagen Mol. (Engl. Ed.)* **37**, 130 (2018).
5. Erdoğan M., Özkan E. E., Öztürk S. A., Yıldız M., Şengül S. S.: *Mol. Imaging Radionucl. Ther.* **29**, 98 (2020).
6. Esen T., Kılıç M., Seymen H., Acar Ö., Demirkol M. O.: *Eur. Urol. Focus* **6**, 2018 (2020).
7. Acar E., Bekiş R., Polack B.: *Curr. Med. Imaging Rev.* **15**, 589 (2019).
8. Kunikowska J., Cieślak B., Gieriej B., Patkowski W., Kraj L., Kotulski M., Zieniewicz K., Królicki L.: *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **48**, 883 (2021).
9. Muzaffar S., Ahmed N., Rahman U., Al Kandari F., Usmani S.: *Indian J. Nucl. Med.* **36**, 90 (2021).
10. Kumar A. a 11 spoluautorů: *Neuroradiology* **64**, 969 (2021).
11. Medina-Ornelas S., García-Perez F., Estrada-Lobato E., Ochoa-Carrillo F.: *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **10**, 135 (2020).
12. Krishnaraju V. S., Kumar R., Mittal B. R., Sharma V., Singh H., Nada R., Bal A., Rohilla M., Singh H., Rana S. S.: *Eur. Radiol.* **31**, 2199 (2021).
13. Dietlein M. a 13 spoluautorů: *Mol. Imaging Biol.* **17**, 575 (2015).
14. Giesel F. L. a 16 spoluautorů: *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **44**, 678 (2017).
15. Giesel F. L. a 16 spoluautorů: *J. Nucl. Med.* **60**, 362 (2019).
16. Werner P., Neumann C., Eiber M., Wester H. J., Schottelius M.: *EJNMMI Res.* **10**, 45 (2020).
17. Wester H. J., Schottelius M.: *Semin. Nucl. Med.* **49**, 302 (2019).
18. Sartor O. a 19 spoluautorů: *N. Engl. J. Med.* **385**, 1091 (2021).
19. Matsuda M., Ishikawa E., Yamamoto T., Hatano K., Joraku A., Iizumi Y., Masuda Y., Nishiyama H., Matsumura A.: *J. Neurooncol.* **138**, 581 (2018).
20. <https://pet-ct.hodnoceni-zdravotni-pece.cz/index.php?pg=vystupy-projektu>, staženo 13. 1. 2022.

M. Budinský^{a,d}, P. Vyšinský^a, Z. Řehák^b, and J. Adam^{b,c} (^a Pharmacy and ^b Department of Nuclear Medicine, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, ^c Division of Radiopharmaceuticals, ÚJV Řež, Husinec-Řež, ^d Department of Applied Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Masaryk University, Brno): **Experience with the Preparation of ^{68}Ga -PSMA-11**

The radiopharmaceutical ^{68}Ga -PSMA-11 represents a radiopharmaceutical drug without marketing authorization for the prostate cancer diagnosis in a specific treatment program. In respect of the radiopharmaceutical technology, the difficultness of the preparation of ^{68}Ga -PSMA-11 is comparable to that of conventional radiopharmaceuticals.

Keywords: ^{68}Ga -PSMA-11, prostate cancer, radiopharmacy, nuclear medicine

● Budinsky M., Vysinsky P., Rehak Z., Adam J.: *Chem. Listy* **116**, 746–750 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220746>