

Informe final publicable de proyecto

POTENCIALES AGENTES DIAGNÓSTICOS PET PARA CÁNCER DE PRÓSTATA DE ALTO GRADO DE AGRESIVIDAD: ESTUDIOS TRASLACIONALES

Código de proyecto ANII: FMV_1_2021_1_169507

Fecha de cierre de proyecto: 01/04/2025

SAVIO QUEVEDO, Eduardo Osvaldo (Responsable Técnico - Científico)

RODRÍGUEZ GIORDANO, Sonia (Investigador)

ZIRBESEGGER MUSSBACHER, Kevin (Investigador)

ZOPPOLO LENCINA, Florencia (Investigador)

GAMBINI, Juan Pablo (Investigador)

IRAZOQUI DUÑACH, María Gabriela (Investigador)

PAOLINO BORDÓ, Andrea (Investigador)

PORCAL QUINTA, Williams Arturo (Investigador)

REYES VEIGA, Ana Laura (Investigador)

CENTRO URUGUAYO DE IMAGENOLÓGÍA MOLECULAR (Institución Proponente) \ \ UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE QUÍMICA \ \
CENTRO URUGUAYO DE IMAGENOLÓGÍA MOLECULAR

Resumen del proyecto

El cáncer de próstata (CP) representa el segundo tumor más diagnosticado en hombres a nivel mundial y constituye una de las principales causas de mortalidad por cáncer. En Uruguay, se registran aproximadamente 1466 casos nuevos y más de 570 muertes por año, según datos de la Comisión Honoraria de Lucha contra el Cáncer.

La implementación de nuevas herramientas diagnósticas han permitido avanzar en la estadificación y caracterización biológica del CP. La Tomografía por Emisión de Positrones (PET/CT) con radiofármacos dirigidos contra el antígeno de membrana específico prostático (18F-PSMA) se ha posicionado como el estándar de referencia para evaluar pacientes con enfermedad intermedia o avanzada. Presenta alta sensibilidad para detectar lesiones primarias y metastásicas, especialmente en tumores de alto grado histológico o con comportamiento agresivo.

Sin embargo, existe un subgrupo de pacientes con tumores particularmente agresivos cuya caracterización molecular sigue siendo un desafío. Diversos estudios han demostrado que la enzima monoaminooxidasa A (MAO-A) está sobreexpresada en el cáncer de próstata desdiferenciado, correlacionándose con una microarquitectura tisular alterada, peor pronóstico, mayor crecimiento tumoral y resistencia al tratamiento.

Este proyecto permitió estudiar diferentes radiofármacos como [11C]Harmina —inhibidor reversible y selectivo de MAO-A— y 18F-Fluoroetilarmol en modelos animales de ratones inmunodeprimidos que desarrollan tumores de células humanas. Luego se avanzó en un estudio traslacional, pasando hacia la clínica realizando una evaluación comparativa con [18F]PSMA en pacientes con cáncer de próstata. El objetivo fue aportar una visión complementaria del perfil biológico tumoral, especialmente en aquellos pacientes de alto riesgo.

Un tercer radiofármaco que identifica la actividad de otra enzima in vivo es la 11C-(S,S)-adenosilmetionina. En colaboración con un equipo especialista en biocatálisis de la Facultad de Química (UdelaR) se implementó un método biocatalítico para su fabricación. Se trata de un método novedoso que el grupo adaptó para poder ser realizado en módulos automatizados de síntesis.

Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Clínica / Radiología, Medicina Nuclear y Diagnóstico por Imágenes / Radiofarmacia

Palabras clave: CÁNCER DE PRÓSTATA / RADIOFÁRMACO / TOMOGRAFÍA DE EMISIÓN DE POSITRONES /

Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.

Antecedentes y aplicabilidad

El cáncer de próstata (CP) constituye el segundo cáncer más diagnosticado en el hombre a nivel global y representa la quinta causa principal de mortalidad por cáncer, constituyendo un problema de salud pública (1). Según las cifras reportadas por la Comisión Honorario de Lucha contra el Cáncer en Uruguay se registran en promedio 1466 casos nuevos al año, con más de 570 muertes anuales en promedio.

La comprensión de esta patología y los nuevos biomarcadores que van emergiendo están permitiendo una mejoraría en el manejo de esta enfermedad. Como ejemplo, cabe mencionar el PSMA que constituye una proteína transmembrana presente en todos los tejidos prostáticos. El incremento de la expresión de PSMA está presente en varios tumores, aunque su concentración es más elevada en el cáncer de próstata. Casi todos los adenocarcinomas de próstata muestran expresión de PSMA en la mayoría de las lesiones, tanto primarias como metastásicas. Estudios inmunohistoquímicos han demostrado que la expresión de PSMA está incrementada en pacientes con tumores desdiferenciados, metastásicos u hormonorrefractarios. Más aún, el nivel de expresión del PSMA tiene un valor pronóstico para la evolución de la enfermedad. La tomografía por emisión de positrones proporciona una medida de la distribución tridimensional del 68Ga-PSMA, obteniendo imágenes semicuantitativas que permiten valorar de forma no invasiva la expresión de PSMA. El radiofármaco 68Ga-PSMA ha emergido rápidamente como la modalidad “gold standard” en imagenología para la estadificación de cáncer de próstata intermedio y avanzado. Se ha sugerido por la Sociedad Internacional de Patología Urológica, que la técnica PET/CT empleando un radiofármaco de PSMA podría ser potencialmente utilizado en todos los pacientes recientemente diagnosticados de cáncer de próstata con Gleason grado 4 significativo o cualquier histología Gleason grado 5, PSA > 20 o enfermedad clínica T3 o superior (5). En el CUDIM se optimizó el marcado de PSMA con 68Ga y 18F, siendo en la actualidad el segundo radiofármaco más utilizado en el centro luego de 18F-Fluor-deoxi-glucosa (18F-FDG).

Los pacientes portadores de CP de alto riesgo representan un 15% del total, incluyendo la definición actual un grupo heterogéneo con un rango de pronóstico. Los cánceres de próstata de alto riesgo tienen el potencial de progresar a un fenotipo letal que puede ser fatal. El hecho de poder identificar aquellos que van a evolucionar con perfil de alto grado de malignidad constituye un desafío y el presente proyecto plantea dos alternativas a través de identificar mecanismos bioquímicos que están sobreexpresados ya sea a través de una enzima o de un receptor.

La Glicina N-metiltransferasa (GNMT), es una enzima que se ha visto sobreexpresada durante la progresión del CP. En consecuencia, la identificación de ligandos para su marcación con radionucleidos PET, constituye una herramienta para el diagnóstico de CP. La (S,S)-adenosilmetionina (isómero (S,S) de SAM) actúa como ligando natural de la GNMT. Considerando esto, se postularon los primeros pasos en investigación en esta área, con el objetivo de obtener la [11C]SAM en el marco de la tesis de doctorado en Química de la Q.F. Florencia Zoppolo (2013-2018, Pos_Nac_2012_1_8769). En este marco se optimizó la síntesis de [11C]SAM; sin embargo la reacción da lugar a dos isómeros: [11C] (S,S)-SAM (isómero activo) y [11C](R,S)-SAM (isómero inactivo). Este radiofármaco, como mezcla escalémica, fue evaluado biológicamente en un modelo tumoral murino de CP determinándose que la concentración tumoral fue significativamente mayor que la del órgano referencia. Se obtuvo la autorización del Comité de Ética de CUDIM para una primera caracterización del radiofármaco en 5 pacientes (2018), la cual no presentó ventajas frente al 68Ga-PSMA. Con estos antecedentes se planteó desarrollar un proceso de síntesis estereoselectivo, que permita

obtener la molécula ópticamente pura, lo que redundaría en una mayor eficiencia del radiofármaco, aumentando la sensibilidad del método diagnóstico. Este proyecto estuvo a cargo de la Dra. Sonia Rodríguez (FMV_1_2017_1_136610; Biocatálisis aplicada a la síntesis de radiotrazadores de utilidad en tomografía de emisión de positrones). En esta línea, la síntesis estereoselectiva se basó en la ruta biosintética natural catalizada por la enzima metionina adenosiltransferasa (metK). Se logró clonar, expresar y purificar la metK soluble, con la cual se realizó la síntesis de (S,S)-SAM con exceso diastereomérico >99%. Además, se ensayó la marcación en una plataforma automatizada empleando la enzima soluble, obteniéndose [11C](S,S)-SAM. Esto demuestra que la reacción biocatalizada es una alternativa a la radiosíntesis clásica, mejorando la pureza diastereomérica. No obstante, el uso de enzima soluble no es factible al realizar la trasposición hacia una producción clínica, pues dificultaría la purificación final. Esto podría ser saldado al contar con un biocatalizador inmovilizado.

Por lo que, se trabajó en el diseño de un derivado inmovilizado enzimático de metK, que permitió obtener la (S,S)-SAM. Estos resultados alentadores abren camino al estudio de la performance del derivado inmovilizado en la reacción de marcación con ¹¹C. Este proyecto plantea optimizar la aplicación de la enzima inmovilizada a la radiosíntesis en un módulo automatizado de síntesis, existiendo interés clínico traslacional en evaluar este nuevo producto. En suma, se plantea como objetivo el desarrollo de un sistema biocatalítico inmovilizado para la síntesis de [11C](S,S)-SAM. Así como su caracterización fisicoquímica y biológica como potencial radiofármaco para el diagnóstico de CP. Finalmente, en el marco del protocolo aprobado se agregaría un adendum para caracterizar en un grupo limitado de pacientes este nuevo agente.

Por otro lado, en los últimos años se ha establecido una relación directa entre el alto grado de agresividad del CP con una mayor expresión de la enzima monoamino oxidasa A (MAO-A) en tumores de pacientes. Desde entonces, diversos artículos científicos emergieron como disparadores en la propuesta de validar a la enzima MAO-A como potencial blanco terapéutico en el tratamiento del CP (13). Recientemente, artículos publicados en revistas científicas de alto impacto acentúan la implicancia de MAO-A como mediadora de la tumorigénesis de la próstata y la metástasis del cáncer (14,15). En base a estos resultados, ha sido descrita recientemente la prometedora actividad terapéutica en modelos animales de cáncer de próstata por parte de Clorgilina, un inhibidor irreversible de MAO-A (16). Aproximadamente el noventa por ciento de las muertes debidas a cáncer de próstata involucran metástasis óseas. El artículo publicado en Cancer Cell 2017 por parte de Wu y col., describe que la enzima MAO-A provoca una cascada de señalización que simplifica el proceso por el cual las células de cáncer de próstata se diseminan hasta el hueso (17). Al introducir líneas celulares de cáncer de próstata humano en ratones y analizar la actividad MAO-A, los investigadores descubrieron que MAO-A en células de cáncer de próstata estimula tres proteínas para aumentar la función de los osteoclastos, células óseas que desempeñan un papel en la degradación del tejido óseo durante el crecimiento y la cicatrización. En el mismo trabajo de Wu y col., la acción de Clorgilina redujo la metástasis y prolongó la supervivencia en ratones. Se evidenció que Clorgilina impedía que MAO-A activara las proteínas que aumentan la función de los osteoclastos, lo que reduce la capacidad de las células de cáncer de próstata para invadir y crecer en el hueso. Por lo tanto, estos hallazgos proporcionan una justificación para investigar un nuevo uso de fármacos antidepressivos para beneficiar a los pacientes con cáncer de próstata en etapa avanzada con signos y síntomas de metástasis.

En base a los antecedentes mencionados anteriormente, en el trabajo de doctorado en química del Lic. Kevin Zirbesegger se planteó el estudio inicial de radiotrazadores emisores de positrones para la evaluación y posible diagnóstico de cáncer de próstata de alta agresividad (POS_NAC_2016_1_130645 y POS_NAC y POS_NAC_2018_1_151430, Inhibidores de MAO-A marcados con carbono-11 y flúor-18 como potenciales agentes de diagnóstico por imágenes PET en cáncer de próstata). En este marco se han optimizado los procesos de radiosíntesis de tres radiotrazadores: ¹¹C-Clorgilina, ¹¹C-Harmina y ¹⁸F-Fluoroetilharmol. Se ha concluido la evaluación biológica de ¹¹C-Clorgilina en modelo xenográfico de CP inducido en ratones atímicos con la línea humana LnCap, restando llevar a cabo la correspondiente a los otros dos agentes. El presente proyecto plantea concluir los ensayos preclínicos, seleccionar el mejor candidato de este conjunto de radiotrazadores antes mencionados para pasar a un estudio traslacional de caracterización en pacientes portadores de cáncer de próstata potencialmente agresivo y realizar su comparación frente al "gold estándar" ¹⁸F/68Ga-FPSMA.

La profundización en este campo podría a futuro no solo proporcionar nuevas herramientas de imagenología molecular para estadificar con precisión el CP, sino también en el caso de los radiofármacos inhibidores de MAO-A, poder proponer un tratamiento farmacológico selectivo mediante inhibidores del blanco molecular identificado.

Justificación

El cáncer de próstata es el cáncer masculino más frecuente en Uruguay. Tras el tratamiento con cirugía y/o radioterapia, casi la mitad de los pacientes sufren una recidiva tumoral, a menudo diagnosticada por un aumento del marcador tumoral sérico Antígeno Prostático Específico (PSA) en los primeros años tras el tratamiento primario. Sin embargo, para que la terapia de rescate tenga éxito, es necesario localizar con precisión las metástasis para determinar el tratamiento más adecuado. En la llamada enfermedad oligometastásica, la terapia dirigida puede ser curativa y evitar que la enfermedad se extienda a lugares distantes. Por lo tanto, es de suma importancia contar con una herramienta precisa de imagen médica para localizar todas las posibles localizaciones a tratar.

Recientemente, el antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA) ha ganado interés para la obtención de imágenes específicas del cáncer de próstata. Debido a la sobreexpresión de PSMA tanto en el cáncer de próstata primario como en el metastásico, los radiotrazadores dirigidos a esta proteína han demostrado una mayor selectividad y sensibilidad en comparación con la imagen convencional.

En la búsqueda de nuevos agentes de imagen específicos para el cáncer de próstata se ha identificado que la Glicina N-metiltransferasa

(GNMT), es una enzima que se ha visto sobreexpresada durante la progresión del cáncer de próstata. La (S,S)-adenosilmetionina (isómero (S,S) de SAM) actúa como ligando natural de la GNMT y es posible llevar adelante su marcación con ^{11}C . Asimismo se ha observado que el cáncer de próstata que presenta un alto grado de agresividad posee una mayor expresión de la enzima monoamino oxidasa A (MAO-A). La Clorgilina, un inhibidor de la MAO-A pasible de ser marcada con ^{11}C .

Estos dos trazadores ^{11}C -(S,S)-(SAM) y ^{11}C MAO podrían ser empleados para estratificar mejor esta población de pacientes portadores de cáncer de próstata de alto riesgo (puntaje de Gleason >7 , PSA >20 ng / ml, estadio clínico T2c-3a) los cuales poseen una probabilidad aumentada de presentar ganglios linfáticos afectados y metástasis óseas.

El objetivo principal de este ensayo es determinar el posible rol de los estudios PET-CT con ^{11}C -(S,S)-(SAM) y ^{11}C MAO en la valoración de los pacientes portadores de cáncer de próstata de alto riesgo en comparación con el radiotrazador de última generación como es el ^{18}F -PSMA. Para ello es necesario concluir algunos aspectos preclínicos de la caracterización biológica de las moléculas propuestas, para habilitar los estudios traslacionales en pacientes.

Metodología/Diseño del estudio

1) Síntesis enzimática de ^{11}C [(S,S)-SAM

La estrategia planteada para la síntesis de esta molécula se basa en la ruta biosintética natural existente en la mayoría de los organismos, catalizada por la enzima metionina adenosil transferasa (metK). Esta enzima es la encargada de catalizar la unión de L-metionina con ATP, formando así (S,S)-SAM. Como fue mencionado en los antecedentes, esta enzima fue clonada, expresada y purificada de acuerdo a reportes en la literatura. Posteriormente, a partir de la enzima obtenida se desarrolló un biocatalizador inmovilizado en una matriz sólida, para poder contar con él en las reacciones de marcación.

El proceso productivo se desarrollará en dos etapas. La primera consiste en la síntesis de ^{11}C metionina utilizando ^{11}C CH₃I como agente metilante y L-homocisteína tiolactona como molécula precursora. La segunda etapa se basa en el paso biocatalítico, que implica la incubación de ^{11}C metionina con ATP y la enzima (metK) como derivado inmovilizado, para que se dé la formación de ^{11}C [(S,S)-SAM. Todos estos pasos de síntesis se llevarán a cabo en un módulo de síntesis automático TRACERlab FX-C Pro (GE).

El desafío existente con esta síntesis es lograr llevarla a cabo en el tiempo requerido por estar involucrado un radionucleido PET de corto período de semidesintegración: ^{11}C , 20 minutos. En estos casos, es de esperar, que los procesos de síntesis, purificación y formulación para obtener un radiofármaco apto para inyectar a un paciente no superen los 40 minutos. A este tiempo se le suman otros 20 minutos para efectuar el control de calidad. Esto significa que, habiendo pasado 3 períodos de semidesintegración, a la hora de inyección a pacientes se dispone de tan solo el 12.5% de la actividad total de partida, sin considerar las pérdidas por rendimiento intrínsecas al propio proceso. Al ser tan crítico y acotado el tiempo disponible, la mayor dedicación estará centrada en la ingeniería de reacción, optimizando las condiciones necesarias para obtener una catálisis veloz y eficiente. En este sentido se plantea un estudio riguroso de las condiciones del medio de reacción, optimizando los parámetros de la misma: temperatura, pH, concentración de sustratos, concentración de enzima, uso de cosolventes, tiempo de marcación

2) Evaluación fisicoquímica de ^{11}C [(S,S)-SAM

Dentro de las etapas del desarrollo de un nuevo radiofármaco, es de gran relevancia la caracterización fisicoquímica del compuesto en estudio. Esta evaluación involucra varios ensayos que consisten en determinar diferentes parámetros que están relacionados con la distribución que presentará el nuevo radiofármaco en el organismo. Por lo que, permiten predecir el comportamiento in vivo del compuesto marcado

3) Caracterización biológica de ^{11}C [(S,S)-SAM mediante estudios de biodistribución e imagenología molecular PET/CT

Se realiza una evaluación biomédica del compuesto obtenido con el fin de analizar distintos aspectos biológicos como ser: su cinética de biodistribución, la concentración de actividad en los distintos órganos y sistemas, sus vías de eliminación, así como la capacidad de captación específica diferencial en tejidos de interés. Se lleva a cabo mediante estudios ex vivo de biodistribución e in vivo de imagenología molecular PET/CT, empleando diferentes modelos murinos. Los modelos animales de experimentación que se emplearon se detallan a continuación:

Ratones Nude N: NIH (S) – Foxn1nu: para generar dos modelos tumorales xenografts de CP, a partir de la inoculación de líneas celulares de CP humano (PC3 y LNCaP).

Ratones Swiss: como modelo control sano.

Los estudios de biodistribución se realizaron a través de la administración endovenosa del radiotrazador ^{11}C [(S,S)-SAM en 2 modelos tumorales y el modelo control sano. Transcurridos los tiempos pre-establecidos postinyección, los animales son sacrificados y se extraerán los órganos y sistemas, así como el tumor en los animales que corresponda. Se determinan los porcentajes de dosis/órgano para establecer el comportamiento general: clearance sanguíneo, vías de eliminación, actividad en los órganos de eliminación (riñón, vejiga, hígado, intestinos) y actividad en excretas (orina y heces). También se determina el porcentaje de dosis/tumor y relación T/NT (tumor/no tumor), para establecer la especificidad del radiotrazador en estudio.

4) Comparación del comportamiento biológico de ^{11}C [(S,S)-SAM frente a la mezcla escalémica y contra un radiofármaco de referencia para CP

Con el fin de evaluar el comportamiento biológico in vivo del radiofármaco ópticamente puro ^{11}C [(S,S)-SAM, frente a ^{11}C SAM como mezcla racémica y un radiotrazador de referencia para CP, se realizará un estudio comparativo entre los mismos. Este análisis se llevará a cabo mediante estudios imagenológicos (PET/CT) a través de la administración endovenosa de los tres radiotrazadores en instancias diferentes. Para ello se emplearán los dos modelos tumorales antes mencionados. Finalmente, a partir de los datos obtenidos para cada radiofármaco, se analizará la captación tumoral específica frente al órgano tomado como referencia (músculo) obtenida en cada caso, y se compararán los resultados.

En este punto es de relevancia poder determinar, por un lado, si los estudios imagenológicos con el isómero puro, frente a la mezcla, radican en

una mejor resolución de imagen. Y por otro, se busca dilucidar si los estudios entre [11C](S,S)-SAM y el radiotrazador de referencia, pueden brindar información diferente pero complementaria en cuanto al diagnóstico de la patología en estudio.

5) Evaluar la utilidad de la técnica PET/CT con un radiotrazador inhibidor de MAO-A en pacientes portadores de cáncer de próstata que posean indicación de estudio PET/CT PSMA radiomarcado y dicho estudio sea positivo

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, no aleatorizado, con el objetivo de comparar la captación tumoral entre dos radiofármacos en pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer de próstata. Cada paciente fue sometido a dos estudios PET/CT: uno con [18F]PSMA y otro con [11C]Harmina, realizados en el mismo equipo PET para asegurar la comparabilidad. Se incluyeron 17 pacientes evaluados en el Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM).

Resultados, análisis y discusión

El proceso de síntesis de [11C](S,S)-SAM fue optimizado.

Se llevó a cabo la caracterización biológica preclínica de los radiotrazadores inhibidores de MAO-A [11C]-Harmina o [18F]-Fluoroetilharmol. Se validaron los protocolos de producción y control de calidad de [11C]harmina mediante la realización de tres lotes pilotos. Se validaron los protocolos de producción y control de calidad de [11C]harmina mediante la realización de tres lotes piloto. Se realizaron estudios PET-TC estáticos con [11C]harmina en dos grupos de animales inoculados con células LNCaP. Inicialmente, los estudios se realizaron con un grupo de 5 animales desde los 15 minutos después de la administración intravenosa hasta los 60 minutos. Luego de observar que la relación de captación de [11C]harmina entre el tumor y el músculo seguía aumentando, se estudió un segundo grupo de 7 animales desde los 60 minutos posteriores a la inyección hasta los 90 minutos. Adicionalmente también se estudio otro 2do grupo a los cuales se les inoculó una línea celular PC3, la cual presenta una expresión limitada del blanco molecular (MAO-A). Se pudo confirmar la especificidad de [11C]harmina por el blanco molecular.

Se realizaron estudios de biodistribución de [11C]harmina en dos grupos de ratones nude machos con tumores xenográficos inducidos con células LNCaP o PC3 (control negativo). La biodistribución se determinó 40, 60 y 90 minutos después de la administración intravenosa en cada grupos de las imágenes con ambas líneas celulares. La comparación entre LNCaP y PC3 mostró un %ID más bajo en el tumor PC3 a todos los tiempos. Este comportamiento se correlaciona con la expresión limitada de MAO-A en la línea celular PC3. Además, la biodistribución en los tumores LNCaP mostró una tendencia similar a los resultados de las imágenes PET.

Se evaluó la utilidad de la técnica PET/CT con un radiotrazador inhibidor de MAO-A en pacientes portadores de cáncer de próstata que posean indicación de estudio PET/CT PSMA radiomarcado y dicho estudio sea positivo. Se reclutaron un total de 17 pacientes, todos con diagnóstico confirmado de cáncer de próstata, que contaban con estudios PET/CT realizados con ambos radiofármacos: [18F]PSMA y [11C]Harmina. Los estudios se realizaron en el mismo equipo por paciente (GE Discovery 690 o Discovery IQ), siguiendo los protocolos previamente establecidos en el centro. La edad media fue de 76.0 años (rango: 65–83 años). El intervalo medio entre estudios fue de 47.0 días (rango: 20–64 días). Este estudio prospectivo observacional exploró, por primera vez, el valor del radiofármaco [11C]Harmina como herramienta de caracterización molecular no invasiva en pacientes con cáncer de próstata (CP), comparando su captación con la del trazador de referencia [18F]PSMA. Si bien el [18F]PSMA ha demostrado una alta sensibilidad para detectar lesiones primarias y secundarias, especialmente en estadios intermedios o avanzados del CP, su utilidad se ve limitada en ciertos subtipos tumorales desdiferenciados, donde la expresión del antígeno de membrana específico prostático puede estar disminuida o ausente. No se encontraron en la serie estudiada pacientes con captación exclusiva de [11C]Harmina en una región no visualizada por [18F]PSMA. Este patrón podría reflejar un tumor desdiferenciado con pérdida de expresión de PSMA pero con mantenimiento de la actividad de MAO-A. En este contexto, [11C]Harmina permitiría detectar lesiones ocultas para el PET/CT convencional con PSMA, abriendo la puerta a una caracterización más completa del espectro biológico del CP. Desde el punto de vista técnico, la distribución fisiológica de [11C]Harmina resultó favorable para la evaluación de lesiones extra abdominales, mostrando captación predominante en hígado, páncreas, riñones y glándulas suprarrenales, con menor actividad en médula ósea, corazón, pulmón o bazo. Este perfil contrasta con el de [18F]PSMA, que presenta captación fisiológica intensa en glándulas salivales, lacrimales, riñones y tracto urinario, lo cual puede dificultar la detección de lesiones en esas regiones.

Se llevó a cabo la evaluación fisicoquímica y biológica de [11C](S,S)-SAM mediante estudios de biodistribución. Con el fin de realizar la caracterización biológica del radiotrazador [11C](S,S)-SAM se llevaron a cabo estudios de biodistribución en tres grupos de ratones. Un grupo constituido por ratones Swiss machos (grupo control) y los otros dos por ratones nude machos con tumores xenográficos inducidos con dos líneas celulares: LNCaP y PC3 (modelos tumorales). Para cada grupo se establecieron los siguientes tiempos de biodistribución post administración intravenosa del compuesto: 15, 45 y 90 minutos. De los resultados se desprende que el radiotrazador presenta eliminación a través del tracto urinario, lo que era de esperar dada su estructura química y los estudios reportados previamente para la mezcla escalémica. El compuesto no presenta captación inespecífica en otros órganos y tiene rápida depuración sanguínea.

Con la finalidad de comparación el comportamiento biológico de [11C](S,S)-SAM frente a la mezcla escalémica se realizó una evaluación in vivo mediante imagenología PET-CT en modelos de tumores xenográficos. Los estudios imagenológicos (PET/CT) se realizaron luego de la administración endovenosa de [11C](S,S)-SAM o de la mezcla escalémica. La adquisición de imágenes se realizó 15 minutos postinyección, en las cámaras híbridas para pequeños animales (Nanoscan®, Mediso). Con el fin de evaluar el comportamiento biológico de [11C](S,S)-SAM frente a [11C]SAM como mezcla escalémica se realizó un estudio comparativo entre los mismos. Se emplearon ratones nude machos con tumores xenográficos inducidos con células LNCaP y PC3(modelos tumorales). Se analizó la captación tumoral específica frente al órgano tomado como referencia (músculo), y se compararon los resultados. Si bien los resultados obtenidos no son significativamente diferentes, se puede observar

que la varianza en ambos casos es mayor para la mezcla escalémica que para el isómero puro. Esto se confirma para el caso del modelo de LNCAP, utilizando la prueba de igualdad de varianzas cuyo.

Conclusiones y recomendaciones

Los resultados de biodistribución confirman los hallazgos previos obtenidos mediante imágenes PET y aportan evidencia adicional para confirmar la especificidad de [11C]harmina por el blanco molecular. La evaluación biológica de [11C]harmina mostró un perfil muy promisorio para ser considerado un radiofármaco translacional. Se planteó por lo tanto el comienzo de un ensayo clínico en base a los resultados obtenidos.

El presente clínico exploró el uso del radiofármaco [11C]Harmina como herramienta de caracterización molecular en pacientes con cáncer de próstata, comparándolo con el trazador estándar [18F]PSMA. Los resultados muestran que, si bien la captación tumoral predominó claramente con PSMA, [11C]Harmina permitió detectar lesiones en un subgrupo específico de pacientes, lo que sugiere un potencial valor agregado en la identificación de fenotipos tumorales desdiferenciados o con coexpresión de MAO-A. Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que [11C]Harmina podría ofrecer información complementaria para el abordaje diagnóstico y pronóstico del cáncer de próstata, especialmente en casos donde la expresión de PSMA es limitada. La captación diferencial observada en algunos pacientes destaca la necesidad de continuar investigando el rol de la enzima MAO-A en la biología tumoral prostática. Futuros estudios con mayor tamaño muestral, análisis cuantitativo (SUV) y correlación inmunohistoquímica serán esenciales para validar estos resultados y evaluar la utilidad clínica de [11C]Harmina como biomarcador no invasivo y posible guía para terapias dirigidas a MAO-A.

En base a los resultados obtenidos de las biodistribuciones con los dos modelos tumorales de líneas de LNCap y PC3 se puede concluir que el compuesto en estudio [11C](S,S)-SAM presenta más afinidad por la línea celular LNCaP. Esto concuerda con una mayor expresión de la enzima GNMT en esta línea, lo cual está reportado y pudo ser verificado por el laboratorio de cultivo celular de nuestro centro. A raíz de estos resultados se desprende que, a futuro para poder emplear este radiofármaco a nivel de investigación clínica se debería seleccionar cuidadosamente los pacientes a ser evaluados. Se debería desarrollar un método indirecto que permita determinar la sobreexpresión de esta enzima en las lesiones neoplásicas de los pacientes a ser estudiados. Una posibilidad sería a través de la determinación de sarcosina en muestras de orina de los posibles participantes, trabajo que queda planteado como perspectiva para continuar con esta línea de trabajo.

En el estudio de comparación del compuesto estereoselectivo vs la mezcla escalémica, se comprobó que la varianza de la mezcla escalémica es mayor que la del isómero puro. Esto indica que los valores de la mezcla escalémica están más dispersos en comparación con el isómero puro, lo que sugiere una mayor inconsistencia o variabilidad en los datos de la mezcla. Por otro lado, el conjunto de datos del isómero puro muestra una varianza significativamente menor, lo que implica que sus valores están más concentrados en torno a la media, reflejando una mayor estabilidad y consistencia. Esta diferencia en la dispersión es importante, ya que, aunque las medias no sean significativamente distintas, la estabilidad de los grupos es considerablemente diferente.

Productos derivados del proyecto

Tipo de producto	Título	Autores	Identificadores	URI en repositorio de Silo	Estado
Artículo científico	Feasibility of a stereoselective synthesis of [11C] (S,S)-S-adenosylmethionine ([11C](S,S)-SAM) catalyzed by an immobilized enzyme	D. Umpiérrez Puchalvert, F. Zoppolo, M. Bentura, A. Castilla, E. Savio, S. Rodríguez Giordano, G. Irazoqui,	https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.12.006	https://hdl.handle.net/20.500.12381/5578	Finalizado
Resumen de conferencia publicado	Radiosynthesis of [11C](S,S)-SAM by biocatalytic methodologies as a potential prostate cancer imaging agent	Eduardo Savio, Florencia Zoppolo, Manuela Bentura, Diego Umpierrez, Sonia Rodriguez, Gabriela Irazoqui, Pablo Duarte and Juan Gambini	https://hdl.handle.net/20.500.12381/5562	https://hdl.handle.net/20.500.12381/5562	Finalizado
Presentación en evento	Aplicación de un derivado enzimático inmovilizado para la síntesis enantioselectiva de un radiotrazador de interés en la detección de cáncer de próstata: avances en estudios pre-clínicos	Florencia Zoppolo, Manuela Bentura, Diego Umpierrez Puchalvert, Eduardo Savio, Sonia Rodríguez Giordano y Gabriela Irazoqui	https://hdl.handle.net/20.500.12381/5517	https://hdl.handle.net/20.500.12381/5517	Finalizado
Presentación en evento	Evaluation of ¹¹ C-SAM Radiotracers for Prostate Cancer Imaging: In Vivo and Ex Vivo Comparison of	Bentura, Manuela; Zoppolo, Florencia; Reyes, Laura;			En proceso

Tipo de producto	Título	Autores	Identificadores	URI en repositorio de Silo	Estado
	Scalemic and Enantiopure Forms	Falasco, German; Urrutia, Leandro; Paolino, Andrea; Umpierrez, Diego; Irazoqui, Gabriela; Rodriguez, Sonia; Savio, Eduardo			
Presentación en evento	Experiencia transdisciplinaria en desarrollos con potencial traslacional en salud: sinergia Udelar-CUDIM en Centro CEIBOS	Mariella Terán, Mariana Barraco-Vega, Manuela Bentura, Agustín Castilla, Roberto Castro, Gianna Cecchetto, Gabriela da Rosa, Javier Giglio, César Iglesias, Gabriela Irazoqui, Gonzalo López, Jessica Osorio, Paola Panizza, Fernanda Ramos, Ana Laura Reyes, Eduardo Savio, Ariel Tijman, Diego Umpierrez Puchalvert, Florencia Zoppolo, Pablo D.	https://hdl.handle.net/20.500.12381/5529	https://hdl.handle.net/20.500.12381/5529	Finalizado

Tipo de producto	Título	Autores	Identificadores	URI en repositorio de Silo	Estado
		Dans, Sonia Rodríguez Giordano			
Tesis de maestría	Biocatálisis aplicada a la síntesis de radiotrazadores: síntesis de S-adenosil metionina por metodologías biocatalíticas.	Diego Umpiérrez Puchalvert	https://hdl.handle.net/20.500.12008/38391	https://hdl.handle.net/20.500.12008/38391	Finalizado

Referencias bibliográficas

1. Comisión Honoraria de Lucha contra el Cáncer. Registro estadístico Próstata 2013–2017. Montevideo, Uruguay; junio 2021. Disponible en: <https://www.comisioncancer.org.uy/>
2. Tonry C, Finn SP, Armstrong J, Penney SC. Clinical Proteomics. 2020;17:41. doi:10.1186/s12014-020-09283-w
3. García Garzón JR, Sánchez Ávila N, Jiménez Heffernan JA, et al. La PET/TC con 68Ga-PSMA en el cáncer de próstata. Rev Esp Med Nucl Imagen Mol. 2017;36(4):242–248.
4. Hofman MS, Murphy DG, Williams SG, et al. A prospective randomized multicentre study of the impact of gallium-68 PSMA PET/CT imaging for staging high-risk prostate cancer prior to curative-intent surgery or radiotherapy (proPSMA study): clinical trial protocol. BJU Int. 2018;122(5):783–793.
5. True LD, Coleman IM, Hawley S, et al. A molecular correlate to the Gleason grading system for prostate adenocarcinoma. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103(29):10991–10996.
6. Peehl DM, Coram MA, Khine H, Reese SW, Nolley R, Zhao H. The significance of monoamine oxidase A expression in high grade prostate cancer. J Urol. 2008;180(5):2206–2211.
7. Wu JB, Shao C, Li X, et al. Monoamine oxidase A mediates prostate tumorigenesis and cancer metastasis. J Clin Invest. 2014;124(7):2891–2909.
8. Wu JB, Yin L, Shi C, et al. MAOA-dependent activation of Shh-IL6-RANKL signaling network promotes prostate cancer metastasis by engaging tumor-stromal cell interactions. Cancer Cell. 2017;31(3):368–382.
9. Chou Y-C, Lin C-L, Lin M-C, et al. Antidepressant medication use and prostate cancer recurrence in men with depressive disorders: a nationwide population-based cohort study. Cancer Causes & Control. 2022;33:1363–1372. doi:10.1007/s10552-022-01623-5
10. Fowler JS, Logan J, Volkow ND, et al. Comparison of the binding of the irreversible monoamine oxidase tracers [11C]clorgyline and [11C]l-deprenyl in brain and peripheral organs in humans. Nucl Med Biol. 2004;31:313–319.
11. Logan J, Fowler JS, Volkow ND, et al. Strategy for the formation of parametric images under conditions of low injected radioactivity applied to PET studies with the irreversible monoamine oxidase A tracers [11C]clorgyline and deuterium-substituted [11C]clorgyline. J Cereb Blood Flow Metab. 2002;22(11):1367–1376.
12. Molecular Imaging of Monoamine Oxidase A Expression in Highly Aggressive Prostate Cancer: Synthesis and Preclinical Evaluation of Positron Emission Tomography Tracers. Kevin Zirbesegger, Laura Reyes, Andrea Paolino, Rosina Daputo, Florencia Arredondo, Juan P. Gambini, Eduardo Savio, and Williams Porcal. ACS Pharmacology & Translational Science 2023 6 (11), 1734–1744. doi: 10.1021/acspstci.3c00175
13. TotalSegmentator: Robust Segmentation of 104 Anatomic Structures in CT Images. Jakob Wasserthal, Hanns-Christian Breit, Manfred T. Meyer, Maurice Pradella, Daniel Hinck, Alexander W. Sauter, Tobias Heye, Daniel T. Boll, Joshy Cyriac, Shan Yang, Michael Bach, and Martin Segeroth. Radiology: Artificial Intelligence 2023 5:5
14. 68Ga-PSMA-11 PET/CT in primary staging of prostate cancer: PSA and Gleason score predict the intensity of tracer accumulation in the primary tumour. Uprimny, C., Kroiss, A. S., Decristoforo, C., Fritz, J., von Guggenberg, E., Kendler, D., Virgolini, I. J. (2017). European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 44(6), 941–949. doi:10.1007/s00259-017-3631-6
15. The theranostic PSMA ligand PSMA-617 in the diagnosis of prostate cancer by PET/CT: biodistribution in humans, radiation dosimetry, and first evaluation of tumor lesions. Afshar-Oromieh A, Hetzheim H, Kratochwil C, Benesova M, Eder M, Neels OC, et al.. J Nucl Med. 201.
16. Alonso, O; Dos Santos, G., Castro, R, Paolino, A., Quagliata, A., Balter, H., Trindade, V., Giglio, J., Savio, E., Engler, H. 68Ga-DOTATATE PET/CT in patients with hormone-resistant prostate cancer showing biochemical relapse: Intraindividual comparison with 11C-Choline. Journal of Nuclear Medicine, v.: 54 2, p.:347 - 347, 2013.

17. Giglio, J., Zeni, M., Engler, H., Savio, E. Synthesis of an Al18F radiofluorinated GLU-UREA-LYS(AHX)-HBED-CC PSMA ligand in an automated synthesis platform. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*, v.: 3 1 , p.:1 - 12, 2018.
18. Alonso, O; Dos Santos, G., Giglio, J., Savio, E., Engler, H. PET/CT evaluation of prostate cancer patients with Al18F-PSMA-HBED-CC: a head-to-head comparison with 68Ga-PSMA-HBED-CC. *Journal of Nuclear Medicine* May 2018, 59 (supplement 1) 1499.
<https://jnm.snmjournals.org/content/jnumed/62/2/201.full.pdf>
19. Zoppolo, F, Porcal, W, Oliver, P., Oliver, P., Savio, E., Engler, H. Automated one-pot radiosynthesis of [11C]S-adenosyl methionine. *Current Radiopharmaceuticals*, V 10 (3), 2017.
20. Zoppolo, F., Mora Ramírez, E., Reyes Veiga, AL, Vasilskis, E., Paolino, A., Porcal, W, Oliver, P., Bardies, M., Savio, E., Engler, E. Biological and dosimetric evaluation of [11C]S-adenosyl Methionine as a potential agent for prostate cancer diagnosis *Cancer Research Frontiers*, V 4(1) , 27 - 44, 2018
21. Joanna S. Fowler, Jean Logan, Elena Shumay y col. Monoamine oxidase: radiotracer chemistry and human studies. *J Label Compd Radiopharm* (2015), 58, 51-64
22. D. Umpiérrez Puchalvert, F. Zoppolo, M. Bentura, A. Castilla, E. Savio, S. Rodríguez Giordano, G. Irazoqui. Feasibility of a stereoselective synthesis of [11C](S,S)-S-adenosylmethionine ([11C](S,S)-SAM) catalyzed by an immobilized enzyme. *Process Biochemistry*,V 149, 2025, 137-143. ISSN 1359. doi.org/10.1016/j.procbio.2024.12.006.

Licenciamiento

Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. (CC BY-NC-ND)

