Dan Beninson

Instituto de Tecnología Nuclear

"OBTENCIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DEL CITRATO DE ^{68}Ga"

***Carrera**: ESPECIALIZACIÓN en RADIOQUÍMICA y APLICACIONES NUCLEARES*

Alumno: **Lic**. ***Maure, Néstor Fabián***

Director: *Lic. Durán, Adrián Pablo*

Mes y Año: *Julio 2015*

COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA

UNSAM UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN

AGRADECIMIENTOS

Una vez culminado este trabajo y como bien dice el refrán, "es de bien nacido el ser agradecido", es momento de recordar y reconocer la labor de las personas que han colaborado, de una forma u otra, en la elaboración de esta tesina de postgrado.

En primer lugar agradecer a la Fundación Centro Diagnostico Nuclear (FCDN), especialmente al Lic. Adrián Durán, quien con toda la disposición dirigió el presente trabajo, compartiendo conmigo sus amplios conocimientos en los diferentes temas involucrados, y su experiencia adquirida con los años de trabajo e investigación científica en el campo de la radioquímica.

Agradecer con mucho afecto al Instituto Dan Beninson (IDB) de la Universidad Nacional de San Martín, ya que gracias a esta institución, adquirí nuevos conocimiento en un área que poco conocía antes de comenzar esta especialización. Además, darle las gracias a la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), por otorgarme una beca de estudio y hacer posible así instalarme en la ciudad de Buenos Aires y de esta manera, poder asistir en carácter presencial al cursado de la carrera.

A todos los profesores que dictaron con mucha entereza la carrera de Especialización en Radioquímica, y compartieron sus conocimientos en el área con el alumnado. También mis agradecimientos a todos mis compañeros/as del IDB que durante el ámbito del cursado, como así también fuera de él, fueron personas que mostraron gran compañerismo, afecto y solidaridad para con mi persona.

A Todos, Muchas Gracias!!!

INDICE

Resumen..……...5

Objetivos.……...6

Capítulo I: Introducción

1.1-Galio…….8

1.1.1-Ocurrencia en la Naturaleza…….8

1.1.2-Aplicaciones……...……...…8

1.1.3-Propiedades…….……10

1.1.3.1-Físicas……..10

1.1.3.2-Químicas…….11

1.1.4-Principales Vías de Extracción del Metal…….....12

1.2-Historia del Galio Radioactivo…..…….....13

1.1.1-^{67}Ga……...…….…….....13

1.1.2-Aplicación Clínica del ^{67}Ga……..…..…….....14

1.3-Sistemas Generadores……...…….....15

1.3.1-Generador ^{68}Ge/^{68}Ga……...…….……...16

1.3.2-Aplicación Clínica del ^{68}Ga…..…….....18

Capítulo II: Aspectos Generales del Lugar de Trabajo

2.1-Descripción de la Instalación de la FCDN…….22

2.1.1-Zonas Relevantes de la FCDN…….……...24

2.1.2-Automatización en el Proceso de Producción……...…….28

2.2-Aspectos Básicos de Protección Radiológica…….……34

Capítulo III: Desarrollo Experimental

3.1-Conocimientos Previos Sobre el Generador ^{68}Ge/^{68}Ga……..……...…37

3.2- Caracterización del Generador $^{68}Ge/^{68}Ga$……..……...…….38

3.3- Síntesis del ^{68}Ga-Citrato……..……..……..……...……42

3.1.1-Procedimiento de la Síntesis del ^{68}Ga-Citrato…….....42

3.3.2-Controles de Calidad del ^{68}Ga-Citrato…….……...……44

Capítulo IV: Consideraciones Generales

4.1-Conclusiones Finales……..…….……...…47

4.2-Perspectivas Futuras…… ……..…….……...……48

Referencias Bibliográficas…….…….50

Anexo.....52

Ficha de Control de Calidad del Generador $^{68}Ge/\ ^{68}Ga$……53

RESUMEN

El trabajo que aquí se presenta, se desarrolló íntegramente en la *Fundación Centro Diagnostico Nuclear* (FCDN) y está basado principalmente en la búsqueda bibliográfica exhaustiva, algunas observaciones puntuales de las tareas rutinarias realizadas por los profesionales de dicho centro médico; y en menor medida, debido al tiempo disponible, por el desarrollo experimental llevado a cabo propiamente dicho.

Dicho trabajo expone las características principales de la producción de radiofármacos marcados con ^{68}Ga, enfocándose especialmente en la síntesis de ^{68}Ga-Citrato; mostrando además algunos detalles de los procesos radioquímicos involucrados en su desarrollo, y también, los aspectos prácticos necesarios para la realización de los controles de calidad requeridos en producción de radiofármacos para tomografía por emisión de positrones (PET).

Teniendo en cuenta que los radiofármacos PET se administran al organismo humano, al igual que los medicamentos, se requiere especial cuidado en su producción. Así, este trabajo describe cuales son las principales características de las instalaciones donde se desarrollan los radiofármacos así como también la forma utilizada para logra el dispensado aséptico correcto que permite su uso médico.

OBJETIVOS

- ✓ Conocer la historia del elemento galio estable como así también radioactivo y su química y radioquímica, respectivamente, asociada.
- ✓ Conocer las instalaciones y equipamiento necesario para la aplicación de radiofarmacia PET, tanto en producción como en control de calidad.
- ✓ Analizar los procesos de síntesis y controles de calidad aplicados a la producción de radiofármacos marcados con ^{68}Ga, principalmente el ^{68}Ga-Citrato.
- ✓ Precisar las condiciones y procedimientos en cuanto a protección radiológica necesarios para trabajar con seguridad dentro de un centro de radiofarmacia PET.

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 GALIO

1.1.1 Ocurrencia en la naturaleza

Este elemento fue predicho y descripto por Mendeleev como ekaaluminum, y descubierto espectroscópicamente por Lecoq de Boisbaudran en 1875, quien en el mismo año obtuvo el metal por electrólisis a partir de una solución del hidróxido en una solución de hidróxido de potasio. Su nombre viene del latin "gallus", gallo, traducción del nombre del descubridor. El metal fue de interés principalmente académico hasta 1970, cuando se descubrió que los compuestos de galio, como los elementos del grupo 13, tienen propiedades semiconductoras, comenzando entonces un intensivo uso industrial del elemento. Los compuestos de galio son de particular valor en electrónica óptica, especialmente, en la fabricación de diodos de emisión de luz [1].

El galio es uno de los elementos poco dispersos en la naturaleza, con una abundancia natural de 16 ppm. La mayor parte de la producción de galio del mundo es como subproducto de la obtención del óxido de aluminio. La concentración de galio en la bauxita oscila entre 0,003% y 0,008%, dependiendo de la localización del mineral; y el mayor contenido se encuentra en bauxitas tropicales tales como la bauxita de Surinam, que contiene 0,008% de galio. La reserva mundial de galio extraíble existente en la bauxita ha sido estimada en 1,6 $x10^6$ toneladas, basándose en las reservas de bauxita y sus contenidos en galio. Aunque la gallita es el mineral en el que el galio se encuentra más concentrado, la aparición de galio se asocia con aluminosilicatos como la bauxita y arcillas, además de minerales de cinc (por ejemplo, esfalerita) [2].

1.1.2 Aplicaciones.

El metal, las aleaciones, y los compuestos de galio se utilizan en una escala relativamente reducida en industrias como las de construcción de maquinaria (revestimientos, lubricantes); de fabricación de instrumentos (soldadores, arandelas, chapas de suplemento); de producción de equipos eléctricos y electrónicos (diodos, transistores, láseres, revestimientos de conductores) y en la tecnología del vacío; y en la industria química como catalizadores.

El arseniuro de galio (GaAs) y el nitruro de galio (GaN) son valiosos compuestos utilizados ampliamente en la fabricación de semiconductores avanzados para transceptores de microondas, transistores, celdas solares, láseres, diodos láser, en discos compactos y

otras aplicaciones electrónicas. Este compuesto tiene ciertas ventajas con respecto a otros materiales semiconductores, tal como rápida operación con bajo consumo de energía, buena resistencia a la radiación y capacidad para convertir señales eléctricas en ópticas. El GaAs se utiliza en la producción de circuitos integrados.

Los LED's consumen menos de una cuarta parte de la energía necesaria para el funcionamiento de una bombilla incandescente. Diminutas cantidades de galio se emplean en circuitos de teléfono celular. Las aplicaciones del GaAs son altamente especializadas y, por tanto éste no tiene un sustituto. Las células fotovoltaicas son capaces de convertir directamente la energía solar en energía eléctrica y materiales semiconductores, como monocristales de GaAs y InP pueden ser utilizados en las células solares. Aunque el elevado costo que tiene un solo cristal de GaAs, llevó en un comienzo a que se utilizara exclusivamente en la exploración del espacio, estas células solares, con alta eficiencia de conversión, ahora están disponibles para las aplicaciones terrestres. El mejoramiento de las propiedades de circuitos integrados analógicos, debido a la utilización del GaAs, hace que se prefiera éste en lugar de silicio, en las aplicaciones relacionadas con la defensa. Es importante destacar que se incorporó el GaAs en las células solares del telescopio espacial Hubble. Se ha reportado que productos con GaAs representan alrededor del 95% anual del consumo mundial de galio.

El galato de magnesio con impurezas divalentes (por ejemplo, Mn^{2+}) encuentra aplicación comercial en la activación ultravioleta del fósforo en polvo. Aleaciones dentales que contienen el 3% de galio se utilizan en odontología en lugar de mercurio.

El galio tiene gran aplicación en la optoelectrónica (por ejemplo, los LED's), telecomunicaciones, aeroespacial, en muchos artículos comerciales y de uso doméstico tales como, ordenadores y DVD's. A pesar que el galio representa anualmente una cantidad pequeña del material utilizado en el sector de productos electrónicos, su importante impacto como la columna vertebral de dicho sector en todo el mundo, pasa desapercibido por la popularidad de los principales metales básicos, tales como Cu, Ni y Co y por la atracción de los metales del grupo del platino.

El galio cuando es pintado sobre vidrio forma un espejo brillante sobre éste, y además, moja al cristal y a la porcelana. El elemento se adapta fácilmente para formar aleaciones de bajo punto de fusión (por ejemplo, aleaciones eutécticas) con la mayoría de los metales.

El Ga tiene 27 isótopos, que van desde el número másico 60 al 86, y 25 de ellos son radiactivos. Los isótopos radiactivos del Ga tienen variados usos, particularmente en el ámbito de la medicina nuclear. Por ejemplo, el ^{72}Ga es empleado, entre otras aplicaciones, para estudiar las interacciones del elemento galio en el organismo y el ^{67}Ga se usa como agente detector de tumores. Dada la alta afinidad de los macrófagos del sistema linforreticular por el ^{67}Ga, se puede emplear para el diagnóstico de la enfermedad de Hodgkin, el sarcoide de Boeck y la tuberculosis ganglionar. La gammagrafía con galio es una técnica de diagnóstico pulmonar por imágenes que puede utilizarse en combinación con una radiografía torácica inicial para evaluar a los trabajadores con riesgo de desarrollar una enfermedad pulmonar de origen profesional [2].

Por otro lado, una gran cantidad de cloruro de galio ($GaCl_3$) fue utilizada durante la construcción del observatorio de neutrinos en Abruzzo (Italia) en el denominado proyecto *GALLEX* llevado a cabo en el Laboratorio Nacional Grand Sasso entre los años 1991 y 1997 para estudiar estas partículas subatómicas provenientes de los confines del universo. Cerca de 90 toneladas de galio se han utilizado en los experimentos para detectar los neutrinos solares gracias a la siguiente reacción nuclear:

$$\mathrm{Ga}^{71} + \nu_e \rightarrow \mathrm{Ge}^{71} + e^-$$

El umbral para la detección de neutrinos por esta reacción es 233,2 keV, y esto es también la razón por la cual fue elegido el elemento galio, otras reacciones (como por ejemplo con ^{37}Cl) tienen umbrales más altos y por lo tanto son incapaces de detectar neutrinos de baja energía. El producto de ^{71}Ge se extraía químicamente del detector y se lo convertía en el inestable compuesto de hidruro más simple de este elemento llamado germano ($^{71}GeH_4$) que luego se descompone con un periodo de semidesintegracion de 11,43 días y de esta manera cada decaimiento detectado corresponde directamente a los neutrinos que bombardearon al ^{71}Ga en la primer etapa del proceso.

1.1.3 Propiedades

1.1.3.1 Propiedades Físicas

Las propiedades físicas de este elemento son [3]:

- Es un metal de peso atómico 69,723 uma y su número atómico es 31.

- La densidad del elemento en estado líquido es 6,095g/cm^3, y la del sólido es 5,904g/cm3 a 29,6°C.
- Tiene un punto de fusión de 29,76°C.
- Tiene un punto de ebullición de 2044°C.
- Tiene dos isótopos estables: ^{69}Ga (69,4%) y ^{71}Ga (39,6%).
- Es de color plata blanca.
- Forma cristales ortorrómbicos con los siguientes parámetros de celda: a=0,4523nm, b=0,45198nm, c=0,76602nm.
- Es un elemento semi-metálico del grupo 13 (III A) de la tabla periódica.

1.1.3.2 Propiedades Químicas

El galio metálico se disuelve muy lentamente en ácidos minerales diluidos y rápidamente en agua regia y en solución acuosa concentrada de NaOH. También se disuelve lentamente en soluciones de haluros de hidrógeno y en éter. En los compuestos de galio, el número de oxidación de éste es generalmente +3. El estado monovalente es inestable, aunque han sido aislados algunos compuestos de galio monovalentes tales como Ga_2O y GaCl. El estado de oxidación +1 no ha sido detectado en solución, sin embargo, algunas reacciones de galio indican su existencia. Los compuestos oxigenados de Ga(III), que se forman aproximadamente a la misma temperatura que los de aluminio, son el óxido, Ga_2O_3 y los hidróxidos, $Ga(OH)_3$ y GaO.OH. Los haluros de galio tienen carácter covalente y, por lo tanto, tienen buena solubilidad en muchos solventes no polares, en los cuales existen en la forma de dímero.

El galio, al igual que los elementos del grupo 13, forma compuestos binarios, de los cuales los de mayor importancia industrial son GaP y GaAs. Estos compuestos pueden ser preparados a altas temperaturas por combinación directa de los elementos.

En solución acuosa, el galio tiene coordinación octaédrica formando $[Ga(H_2O)_6]^{3+}$ y los hexaacuo complejos sufren reacciones típicas de hidrólisis ácidas. Las sales de galio, débilmente ácidas, no existen en presencia de agua por la misma razón. Hay además muchas sales de oxácidos, como sulfatos, nitratos, percloratos y también haluros hidratados. De los numerosos aniones y cationes complejos de galio los de importancia industrial son los haluros complejos tales como el anión $[GaX_4]^-$, cuyas sales oxoaniónicas tienen buena solubilidad en solventes orgánicos fuertes, propiedad que es utilizada en la extracción y purificación del metal.

Otros complejos de galio de importancia industrial son los quelatos de coordinación octaédrica como p-dicetonas y 8-hidroxiquinolinas, alcoholes y derivados orgánicos, los cuales pueden ser preparados en forma similar a los compuestos análogos del aluminio.

El galio forma una serie de aleaciones con otros metales, a veces, incluso a bajas temperaturas. Algunas de éstas, que contienen hasta un 3% de galio, son usadas en odontología [1].

1.1.4 Principales Vías de Extracción del Metal.

El galio se extrae principalmente de los residuos obtenidos durante el procesamiento de aluminio, y en segundo lugar de los condensadores electrolíticos de cinc. Otras fuentes incluyen las cenizas liberadas de la quema de carbón.

Mientras que países como Australia, China, Alemania, Kazajistán, Rusia y Japón son los principales proveedores de materia prima de galio, Francia es en el mundo el mayor proveedor de galio refinado. En la actualidad, 60 empresas ubicadas en 18 países participan activamente en el suministro de productos de galio. La mayor parte del galio es empleado para producir el arseniuro de galio (GaAs) para la industria electrónica.

La cantidad de galio disponible proveniente de la bauxita es determinada por la cantidad de óxido de aluminio que se produce. En el año 1986 la producción de galio, a partir de óxido de aluminio, fue de 2000 toneladas.

El proceso más importante en la producción de galio es la extracción del galio metálico a partir de los líquidos de circulación del proceso Bayer para la manufactura del óxido de aluminio. Estos líquidos contienen entre 70 y 150 mg/dm^3 de galio, dependiendo de la bauxita y de la concentración de NaOH del líquido cáustico que se utiliza en el proceso. El galio contenido en el líquido es, además, determinado por el proceso de disolución usado; por ejemplo la bauxita concentrada en boehmita (AlOOH) requiere alta temperatura en el proceso de disolución, principalmente, para completar la liberación del galio y aumentar su concentración en los líquidos de circulación.

Tres tipos de procedimientos son usados para la extracción de galio a partir de los líquidos de lixiviación de la bauxita: precipitación fraccional, procesos electrolíticos y extracción con agentes quelantes [2].

.

1.2 HISTORIA DEL GALIO RADIACTIVO

En 1931, el tartrato de galio fue el primer compuesto que se publicara en potencial terapéutico contra la sífilis en conejos. Después de 20 años, el galio radiactivo, inicialmente el radioisótopo ^{72}Ga (emisor β^- , $T_{1/2}$ = 14,1 horas) se usó para tratar varios tipos de cáncer. En 1951, se publico un artículo informando problemas encontrados en la terapia que utiliza galio entre los años 1949 y 1951 en el Instituto de Estudios Nucleares en Oak Ridge. El mayor obstáculo que tuvieron estos estudios fue la falta de información sobre la química, física, biología y toxicidad del elemento galio, dado que es un elemento poco abundante en la naturaleza y por ende poco estudiado hasta entonces.

De los 15 estudios de compuestos químicos del galio, el citrato de ^{72}Ga demostró ser el mejor de ellos. Así se realizaron los estudios de biodistribución y toxicidad en ratas, perros, cerdos y seres humanos; en estos últimos, la terapia del ^{72}Ga fue probada en 34 pacientes con varios tipos de cáncer, metástasis en pulmones especialmente con sarcoma osteogénico o plasmocitoma extramedular. El resto tenía tumor en el tejido blando y metástasis ósea; el citrato de ^{72}Ga aparentemente es depositado en áreas inmediatamente adyacente al contacto del tejido óseo con el tumor, esta ubicación cuando es uniforme es ideal para la terapia, pero trae a consecuencia la concentración en vísceras que se produce varios días después de la administración de citrato de ^{72}Ga [4].

1.2.1. ^{67}Ga.

Se empezaron a evidenciar efectos secundarios en el uso del citrato de ^{72}Ga, con lo cual decreció su interés en él y comenzó a tener relevancia otro radioisótopo de este elemento, el ^{67}Ga. Los investigadores sugerían que este último si bien es el mismo elemento químico, es diferente en otros aspectos, especialmente en relación con la radiotoxicidad, Otra particularidad a destacar es que el ^{72}Ga se producía en un reactor nuclear, con una baja actividad específica y un $T_{1/2}$ relativamente corto lo cual no permitía estudios prolongados. Por otro lado, el ^{67}Ga [CE; $T_{1/2}$ = 78,37 horas; Eγ: 93 keV (40%), 184 keV (24%), 296 keV (22%), 388 keV (7%)] se produce en ciclotrón, a partir de la irradiación de un blanco de zinc enriquecido en ^{68}Zn mediante la reacción nuclear ^{68}Zn (p, 2n) ^{67}Ga. Los estudios en animales con citrato de galio (^{67}Ga) mostraron que la absorción en hueso de este compuesto fue menor que la producida por el citrato de galio (^{72}Ga) o galio inactivo. En 1969 se creía que el citrato de ^{67}Ga podría ser usado en gammagrafías óseas. Sin embargo, en un descubrimiento accidental, se encontraron importantes

concentraciones de ^{67}Ga en tumores de partes blandas, lo que hizo del citrato de ^{67}Ga un compuesto ideal para convertirse en una de las principales herramientas de investigación de tumores en tejido blando. Así, a principios de los años 70, los estudios con galio radiactivo hicieron que sus propiedades terapéuticas como ^{72}Ga fueran dilucidándose.

Los mecanismos propuestos eran la similitud de los radios iónicos de Ga^{+3} y Fe^{+3} (0,62 y 0,65 Å, respectivamente), los valores de electronegatividad de Linus Pauling (1,6 y 1,8; respectivamente), y en consecuencia el comportamiento químico. Sin embargo, el Ga^{+3} no se reduce fácilmente como el Fe^{+3}, por lo que no sufren la misma acción que el Fe^{+3} en reacciones redox. Estas características permiten que el galio reemplace al hierro en algunas proteínas, tales como la transferrina, que se produce en la captación celular de la Ga^{+3} en lugar de Fe^{+3}. Esto ocurre, en particular, en la proliferación de células de cáncer. Se postula que el complejo de galio-transferrina se une a sitios específicos más propensos de receptores de transferrina en la superficie o en el interior del tumor y después el galio se acumula en el tumor, probablemente por difusión a través de la membrana de la célula tumoral, se interioriza en el tumor debido a cambios de pH resultantes de la disminución de la glucólisis. Además, el galio se une a otras proteínas, tales como ferritina y lactoferrina que conduce a alta absorción en las zonas donde normalmente la concentración de hierro es mayor [4].

1.2.2 Aplicación Clínica del ^{67}Ga.

El ^{67}Ga se administra por vía intravenosa en forma de citrato de galio e inmediatamente se une a la transferrina en la sangre, ayudando así a la localización de los tumores, particularmente los linfomas; debido a que tienen receptores que se unen a la transferrina y facilita la incorporación de ^{67}Ga en los lisosomas de las células tumorales. Además, es un agente importante para la localización de focos de inflamación e infección mediante la unión a los leucocitos. Sin embargo, según las estadísticas la fluor-desoxiglucosa marcada con ^{18}F (^{18}F-FDG) sustituye el uso de citrato de ^{67}Ga para la detección de linfomas, excepto donde la tecnología PET no está disponible. El uso de ^{18}F-FDG y citrato de ^{67}Ga es recomendado por la Red Nacional Integral del Cáncer de los Estados Unidos (NCCN) como parte del seguimiento de los pacientes con linfoma no Hodgkin. Durante muchos años, el citrato de ^{67}Ga jugó un papel importante en la puesta en escena de los linfomas. Es evidente que las imágenes hechas con ^{18}F-FDG son superiores a las imágenes hechas con citrato de ^{67}Ga, sumado a que el uso de este último no esta tan

generalizado como el uso de ^{18}F-FDG pero también hay que destacar que la tecnología PET / CT no es una realidad en muchos hospitales y que el ^{67}Ga es un buen agente para la evaluación de los resultados terapéuticos [5].

1.3 SISTEMAS GENERADORES

Un sistema generador de radionucleido es un dispositivo para obtener, a través de una separación efectiva, el radionucleido "hijo", formado por el decaimiento radiactivo del radionucleido "padre", el cual tiene un $T_{1/2}$ mayor al radionucleido hijo; llegando a alcanzar un equilibrio radiactivo a través de un período de tiempo determinado. El objetivo es obtener al radionucleido hijo con una alta pureza química, radioquímica y radionucleídica.

La principal ventaja de la que goza un sistema generador es la disponibilidad de tener el radionucleido listo para su uso en el lugar de aplicación, lo cual significa que no es necesario tener un ciclotrón o un reactor nuclear cerca la instalación para la obtención del radionucleido de interés de forma rutinaria. Por razones prácticas, la mayoría de los generadores se utilizan en aplicaciones medicas debido a que tienen como característica relevante el equilibrio secular que presenta el par genético de los radionucleídos padre/hijo en los que el $T_{1/2}$ padre >>$T_{1/2}$ hijo (aproximadamente 100 veces), lo que permite llevar a cabo un gran número de separaciones repetidas entre ambos radionucleídos; este es el caso del generador utilizado en este trabajo final [4]. No obstante, es importante aclarar que otros tipos de generadores (como el Tc-Mo, por ejemplo) se caracterizan por presentarse en su par genético un estado de equilibrio transitorio.

Las características ideales que un generador debe cumplir se pueden resumir en [6]:

- Que el eluído sea estéril y apirogeno.
- Que los eluyentes sean salinos, compatibles con la administración en humanos.
- El almacenamiento se realice en condiciones de temperatura ambiente y en una atmosfera normal.
- Que la eficacia de separación sea elevada sin presencia de radionucleido padre en el eluído.
- Que el periodo de semidesintegracion del padre sea lo suficientemente corto para facilitar la regeneración del hijo y lo suficientemente largo para que el generador tenga una duración adecuada.

- Las propiedades químicas del radionucleido hijo deben permitir la preparación de radiofármacos por medio de equipos reactivos o kits fríos.
- Que de la desintegracion del radionucleido hijo deriven nucleídos estables o radionucleídos de periodo de semidesintegracion muy largo.
- La protección del sistema padre-hijo debe ser sencilla y el sistema fácilmente recargable.
- Que el procedimiento de separación se debe llevar a cabo sin gran intervención del operador, evitando exposiciones innecesarias a la radiación.

1.3.1 Generador $^{68}Ge/^{68}Ga$.

El generador de $^{68}Ge/^{68}Ga$ ha sido objeto de desarrollo e investigación durante al menos 50 años, se encuentra disponible comercialmente desde hace tiempo en EEUU y en la actualidad en Europa. El ^{68}Ge es un isotopo de un periodo de semidesintegracion relativamente largo ($T_{1/2}$=270,8 días) y produce en su desintegracion ^{68}Ga con un periodo de semidesintegracion corto ($T_{1/2}$ = 67,71 min), el cual a su vez decae a ^{68}Zn, que es estable. El ^{68}Ga es un excelente emisor de positrones, con un 89% de emisión de positrones acompañado de una emisión de un fotón (1,077 keV, 3,22%) [6].

Los generadores de $^{68}Ge/^{68}Ga$ utilizan diferentes materiales en las columnas para retención del ^{68}Ge, que pueden ser de dióxido de titanio (TiO_2) o dióxido de estaño (SnO_2). Por Ejemplo: Eckert & Ziegler de Alemania y Cyclotron Co Ltda. de Rusia usan TiO_2 como columna de retención del ^{68}Ge y eluyen el ^{68}Ga con HCl 0,1N, y el provisto por I.D.B. Holland B.V. y producido por Laboratorio IThemba de Sud-Africa que usa columna de SnO_2 y HCl 0,6N como eluyente, aprovechando que las características químicas del padre Ge (V) y del hijo Ga (III) son lo suficientemente diferentes como para permitir la fácil separación de ellos. (Fig. 1)

Cyclotron Co Ltd.	Isotope Products Laboratories IPL	Eckert&Ziegler IPL	I.D.B. Holland B.V.
From: Russia *Column fill material:* Titanium-dioxide TiO_2 *Eluent:* 0.1 M HCl ^{68}Ge: < 0,01% *GMP production:* No	*From:* USA *Column fill material:* Tin-dioxide SnO_2 *Eluent:* 1 M HCl ^{68}Ge: < 0,0015 % *GMP production:* No	*From:* USA *Column fill material:* Titanium-dioxideTiO_2 *Eluent:* 0.1 M HCl ^{68}Ge: < 0,001 % *GMP production:* Yes	*From:* Holland *Column fill material:* Tin-dioxide SnO_2 *Eluent:* 0.6 M HCl ^{68}Ge: 0,002 % *GMP production:* Yes

Fig. 1: Diversos Generadores de ^{68}Ga[5]

Uno de los aspectos más importante en el uso del generador $^{68}Ge/^{68}Ga$ para producción de radiofármacos, en estudios clínicos de PET, es la pureza, la forma y la concentración química del eluato que pueden ser perjudicadas debido a [5]:

- Posible desprendimiento (breakthrough) del padre ^{68}Ge, de largo período de semidesintegración, desde la columna del generador de TiO_2 implicando aproximadamente un 3-10 % de la actividad total del eluído de ^{68}Ga.
- La presencia de otros cationes metálicos en el eluído. Generalmente el eluato contiene impurezas críticas como Fe (III), Mn (II), Zn (II) y Ti (IV) que también puede ser eluídas del generador, en concentraciones relativamente altas, por lo que no se obtiene un eluído suficientemente puro y los cationes metálicos presentes compiten con el ^{68}Ga. Por ello es recomendable no utilizar las primeras eluciones del generador y purificar el eluído, antes de la marcación con el fin de obtener un radiofármaco de alto rendimiento de marcación y alta actividad específica.
- La concentración del ^{68}Ga debe ser baja, debido a que se usan cantidades nano-molares del péptido a marcar y de acuerdo al perfil de elución del generador.

Hoy en día, el generador disponible comercialmente está basado en una columna cromatografica de intercambio anionico con una fase solida de TiO_2 donde se encuentra retenido el ^{68}Ge en forma de oxido. El $^{68}Ga^{+3}$ iónico es eluído con una solución de HCl 0,1 N y el rendimiento de ^{68}Ga es de más del 60%, con una contaminación de ^{68}Ge que no excede de $5x10^{-3}$ %. Los rendimientos de marcaje y las actividades específicas pueden no lograr valores máximos debido a la presencia de impurezas metálicas antes mencionadas (Zn, Cu, Pb, Co, Cr, Cd, Ni, Fe, Mn, Al, Nb). Por ejemplo, cantidades significativas de Zn (II) son generadas a partir del decaimiento del ^{68}Ga. En cualquier caso esta contaminación puede no comprometer el marcaje de elementos sanguíneos, péptidos y agentes quelantes, lo cual hace que puedan ser usadas en cantidades de miligramos [6].

1.3.2 Aplicación Clínica del ^{68}Ga.

Para la posterior síntesis de los diferentes radiofármacos es necesaria la extracción del HCl, que se puede conseguir por evaporación o bien mediante métodos de intercambio iónico, consiguiendo una solución concentrada de ^{68}Ga de alto rendimiento. Existen descritos métodos de manipulación semiautomáticos para la preparación y producción de

radiofármacos marcados con ^{68}Ga en un tiempo no superior a los 20 minutos, como por ejemplo, sistemas que permiten el marcaje de múltiples péptidos, como es el caso del DOTA (ácido 1,4,7,10-tetra-azaciclododecano- 1,4,7,10-tetraacético). La forma química estable en solución en condiciones fisiológicas es el catión Ga^{+3}, que puede formar complejos estables con los quelantes, solos o conjugados con macromoléculas o con pequeñas moléculas orgánicas, entre estos agentes quelantes se encuentra el DOTA [6].

Este compuesto acoplado a la molécula de octreotido da lugar al DOTA0-Tyr3-octreotido que marcado con ^{68}Ga, da como resultado un radiopéptido que no solo muestra una afinidad de unión 5 veces mayor por el subtipo 2 del receptor de la somatostatina, sino también unas 2,5 veces mayor por la captación tumoral en un modelo murino, así como una baja captación en riñón.

Los receptores de somatostatina se encuentran sobre expresados en una gran variedad de tumores neuroendócrinos, esto ha provocado el desarrollo de distintos radiofármacos con afinidad por estos receptores (como el caso del Octreoscan). Se ha observado mediante PET que estos nuevos radiofármacos pueden tener una afinidad alta hacia determinados receptores, en concreto los subtipos 1-5 del receptor de la somatostatina, de un amplio número de tumores (páncreas, adrenales, pituitaria y estómago), aunque no en todos los subtipos se ha presentado la misma capacidad de unión. La mayoría de los tumores estudiados expresan el subtipo 2 del receptor de somatostatina, aunque algunos datos recientes sugieren que también el subtipo 1, 3 y 5 pueden presentarse en algunos tumores humanos [6].

Además podemos resaltar los puntos más ventajosos en lo referente al uso de éste radionucleido [6]:

1) El largo periodo de semidesintegracion del radionucleido padre, permite el uso del generador por un prolongado periodo de tiempo, potencialmente más de un año.
2) El periodo de semidesintegración del ^{68}Ga permite que la farmacocinética de muchos péptidos y otras pequeñas moléculas debido a la rápida difusión, localización en la diana y el rápido aclaramiento sanguíneo, puedan ser empleados en estudios diagnósticos.
3) El ^{68}Ga se encuentra disponible a un costo razonable a partir del generador de $^{68}Ge/^{68}Ga$ para ser utilizado en centros sin ciclotrón.

4) Además se están desarrollando moléculas análogas de DOTA-somatostatina, así como otros péptidos, tales como la bombesina, sustancia P, neurotesina y CCK (colecistoquinina). El DOTA es un ligante excelente para unirse al galio, y como consecuencia, los DOTA-péptidos pueden ser marcados de una forma rápida y eficiente con ^{68}Ga y altas actividades específicas, implicando que la masa del péptido administrada sea muy baja. Esto es de particular interés en el caso de péptidos con efectos farmacológicos, incluyendo la sustancia P, bombesina y CCK.

CAPITULO II: ASPECTOS GENERALES DEL LUGAR DE TRABAJO

2.1 DESCRIPCIÓN DE LA INSTALACIÓN DE LA FCDN

La Fundación *Centro Diagnóstico Nuclear* (FCDN) es una entidad de bien público, sin fines de lucro, ocupada en el diagnóstico y la investigación de un variado número de patologías, ofreciendo atención a diversos tipos de pacientes con el fin de mejorar su calidad de vida. Nació en el año 2004, con el aval de la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA) y la Fundación Escuela de Medicina Nuclear (esta última creada por el Gobierno de Mendoza, la Universidad Nacional de Cuyo y la CNEA), y cuenta con tecnología de última generación, y un equipo multidisciplinario de recursos humanos con experiencia y compromiso en sus tareas [7].

Las instalaciones de la FCDN, donde se realizaron las observaciones puntuales, como así también el desarrollo experimental que fundamentan el presente trabajo, se rigen por la normativa en cuanto a protección radiológica de la Autoridad Regulatoria Nuclear Argentina (ARN), y teniendo en cuenta los requisitos relacionados con la preparación de sustancias con calidad farmacéutica según lo establecido por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) y la Farmacopea Nacional Argentina.

Aplicando la normativa general que rige las instalaciones radiofarmacéuticas para PET, y las observaciones llevadas a cabo en la FCDN; a continuación se describirán las condiciones generales que debe cumplir esta clase de instalaciones para su funcionamiento.

Los locales deben emplazarse, diseñarse, construirse, adaptarse y mantenerse de forma conveniente a las operaciones que deban realizarse. Su disposición y diseño deben tender a minimizar el riesgo de errores y a permitir una limpieza y mantenimiento efectivos para evitar la contaminación cruzada, la acumulación de polvo o suciedad y, en general, cualquier efecto negativo sobre la calidad de los productos.

Su diseño se adaptará también a las medidas de protección radiológica correspondientes, ya sea mediante el blindaje de paredes o autoblindaje de los equipos o en la misma distribución del lugar, de forma que se permita que los productos radiactivos se almacenen, procesen, acondicionen y controlen en instalaciones especiales e independientes.

Todas las salas estarán señalizadas de acuerdo a las normas establecidas en el Reglamento sobre Protección Radiológica contra las Radiaciones Ionizantes establecidas por la autoridad competente del país donde se encuentre la instalación; en nuestro caso de ARN.

2.1.1 Zonas Relevantes de la FCDN

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, la unidad de producción de radiofármacos de la FCDN dispone de los siguientes sectores [8]:

- **Búnker del ciclotrón:** Se refiere al lugar donde se encuentra el ciclotrón y sistemas relacionados con éste, cuenta con un sistema de ventilacion con extracccion forzada resultando así una presion negativa con respecto a los locales adyacentes. Las paredes están blindadas con un grosor característico y apropiado para su correcto y seguro funcionamiento (la mayoría de los ciclotrones usados en los centros de medicina nuclear están auto blindados de fábrica). El ciclotrón de la marca Siemmens instalado en la FCDN es un modelo Eclipse RDS-111 autoblindado con blindaje apto para neutrones (hormigon dopado con boro) que acelera protones a 11 MeV, posee dos cambiadores de blancos, sistema dual beam, corriente máxima por blanco de 40 µA (80 max en dual beam), dos blancos de ^{18}F, dos blancos de ^{11}C y un blanco de ^{13}N. (Fig. 2.1)

Fig. 2.1: Ciclotrón Auto Blindado (FCDN).

- **Sala de control del ciclotrón:** Es el lugar donde se sitúa la estación de control del ciclotrón, y desde donde sus trabajadores operan de forma segura.
- **Laboratorio se producción**: Zona de sala limpia, destinada a la producción y dispensado del producto; en ella se desarrollan las siguientes actividades:

a) Producción de radiofármacos emisores de positrones, a partir de los isótopos generados en el ciclotrón.
b) Dispensación del lote de radiofármaco PET producido, en forma de viales o de jeringas. En este lugar se dispensa el producto, obteniendo los diferentes viales destinados a la dosis del paciente, control de calidad, pirógenos, esterilidad y museo (se guarda por tiempo indeterminado).

La entrada y salida de materiales de la sala de síntesis se realiza a través de un sistema pasa materiales que puede ser un pequeño recinto con doble ventana, de forma que minimice el tiempo de contacto del operador con la muestra, facilitando el traslado a la zona de inyección, como se observa en la Fig. 2.2.

Fig.2.2: Recinto de Salida de Material.

- **Área de vestuario:** Esta zona generalmente cuenta con doble puerta, de manera que exista una separación contundente de la sala limpia y el área de entrada, evitando la pérdida de la calidad ambiental en la sala de síntesis. Además es el lugar donde el personal se coloca la vestimenta adecuada para trabajar en la zona de producción y en el laboratorio de control de calidad. Es conveniente la presencia en esta sala de una ducha de descontaminación de emergencia y un detector de radiación de manos-pies para verificar que el personal abandona las áreas controladas sin ninguna contaminación.

- **Laboratorio de control de calidad:** Es el lugar donde se realizan los procedimientos de control de calidad. En la Fig. 2.3 se observa el laboratorio de control de calidad adecuado para la realización de los ensayos analíticos.

Fig. 2.3: Laboratorio de Control de Calidad (FCDN)

- **Zona de recepción de materias primas:** Es el lugar donde se realiza la recepción las materias primas necesarias para la fabricación del producto y la realización de controles de calidad. Esta área debe estar fuera de las zonas controladas, lo que implica no tener contacto con material radiactivo.

- **Zona de expedición del material radiactivo:** Esta área se refiere a la zona por donde se realiza la entrega del material radiactivo a ser enviado a otros centros de medicina nuclear, diferentes a donde se realizó la producción.

- **Zona de almacén:** Es donde se acopia la materia prima y las muestras museo (muestras control de cada lote de producción).

- **Lugar de almacenamiento de residuos radiactivos**: está destinado al almacenamiento de los residuos radiactivos hasta su decaimiento y su complejidad depende de la clase de residuos radiactivos (periodo de

semidesintegración, concentración de actividad, propiedades fisicoquímicas del desecho, etc.).

Aparte de los requerimientos de zonas descritos anteriormente es necesario tener en cuenta que los radiofármacos PET son medicamentos y como tales su fabricación debe realizarse en una zona limpia para minimizar los riesgos de contaminación microbiana, de partículas y de pirógenos.

Además de lo anterior la producción de radiofármacos PET está sujeta a un control de las condiciones ambientales por ser medicamentos estériles y además por presentar isótopos radiactivos. Así, hay que tener en cuenta que el aire extraído de lugares en los que se manipulen productos radiactivos no sea recirculado. Las salidas de aire están diseñadas de forma que se evite la posible contaminación ambiental por partículas y gases radioactivos.

Esto es con el propósito de cuidar que las áreas de producción y control de calidad sean salas limpias, esto se refiere a una habitación en la cual la concentración de partículas en el aire, la temperatura, la humedad y la presión están controladas, y además está construida y utilizada de manera que se minimice la introducción, generación y retención de partículas en su interior. Todo el aire que entra en la sala limpia sufre tres etapas de filtración, siendo la última un filtro HEPA (high efficiency particulate air). Los materiales utilizados para la construcción de la sala limpia son no porosos, por el contrario son de fácil limpieza y no generadores de partículas. El personal en el interior de la sala limpia es en todo momento el mínimo posible para las tareas a realizar, debe acceder con ropa especial que no desprenda fibras ni partículas, debe llevar cubierto el cabello y en caso de tener la barba y el bigote, y además llevar zapatos o cubrezapatos adecuados.

2.1.2 Automatización en el Proceso de Producción

La automatización de procesos en los laboratorios de radiofarmacia PET, es un requisito importante para su desarrollo debido a las cantidades de dosis que se manejan, a los pasos que requiere la síntesis y a los tiempos de decaimiento de los radionúclidos. Por lo que es común la aplicación de sistemas de síntesis automatizada o de sistemas robotizados para la realización de diversas tareas en el laboratorio PET permitiendo:

- ✓ La reducción de la exposición del personal a la radiación.
- ✓ Llevar a cabo las síntesis en condiciones fijas y exactamente reproducibles.
- ✓ Minimizar la posibilidad de falla del operador.
- ✓ Aumento de la eficiencia de producción, lo que a su vez se traduce en la obtención de rendimientos mayores.
- ✓ Producción de radiofármacos de calidad asegurada y constante.

Es importante destacar que todo lo anterior facilita el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio y las buenas prácticas radiofarmacéuticas, y por lo tanto el funcionamiento de la instalación de acuerdo a un sistema global de aseguramiento y control de calidad.

La automatización o la robotización pueden incluir diversos procesos que forman parte de la producción de los radiofarmacos PET, tales como síntesis, purificación del compuesto, control de calidad y la preparación de mono-dosis listas para la administración.

Para lograr esta automatización y llevar a cabo el proceso de producción y control de calidad, el centro de radiofarmacia PET incluiye:

- **Equipamiento de producción:** El equipamiento de producción debe estar diseñado, emplazado y mantenido de forma adecuada a su uso previsto. Debe estar planteado de manera que pueda limpiarse fácil y completamente. La limpieza se debe realizar con arreglo a procedimientos detallados recogidos por escrito y el equipo conservarse en estado limpio y seco. Ésta no debe suponer ningún peligro para los productos ni para los operadores de las celdas. Las partes del equipo que entren en contacto con el producto no deben reaccionar con éste, adicionarse al mismo ni absorberse de forma que quede afectada la calidad del producto y en consecuencia, se origine algún problema

para la aceptación del radiofármaco, la instalación o la seguridad de las personas involucradas en la producción, por lo que debe estar diseñado con materiales adecuados según la síntesis a realizar.

- **Sala de Producción**: El laboratorio de producción debe poseer, celdas blindadas que son estructuras cerradas destinadas a albergar los módulos de síntesis y que permiten el adecuado control ambiental desde el punto de vista de las buenas prácticas de manufactura (BPM) y de la radioprotección. Ejemplo de estas son las celdas usadas en la FCDN que se observan en la Fig. 2.4.

Fig. 2.4: Celda Blindada Marca Comecer

Deben ser especialmente diseñadas o adaptadas para cada síntesis en particular, con el fin de evitar la irradiación del operador. Estas celdas disponen de un sistema de circulación de aire y filtros HEPA que garantizan que el aire del interior de la celda sea el adecuado. En el interior de la celda se encuentra un módulo de síntesis, el cual es un sistema automatizado que consta de los recipientes, las válvulas y las conexiones necesarias para una preparación de los radiofármacos, sin necesidad de operación manual por parte del personal. El módulo tiene asociado un ordenador desde el cual se lo controla por medio de un software adecuado, lo que permite seguir el procedimiento

de síntesis. Además de la celda de producción se debe contar con una celda para el modulo de dispensación, la cual debe ser igualmente blindada de tal forma que proporcione blindaje frente a la radiación del interior y una calidad ambiental adecuada en el interior de esta, gracias al flujo laminar y al sistema de filtros que dispone. El módulo automático de dispensación, situado en el interior de la celda dispuesta para el mismo, permite el fraccionamiento del lote producido en viales o en jeringas para la administración al paciente. Éste presenta asociado un ordenador desde el cual se dan las ordenes al módulo y se puede seguir el proceso a través de cámaras de video.

- **Laboratorio de Control de Calidad**: A pesar de no ser necesario el uso de celdas de producción, esta área debe estar equipada por una cabina de flujo laminar, para los trabajos referidos a control de calidad. En dicha cabina se debe acondicionar un sistema plomado sin confinamiento con visor de vidrio plomado para protección del analista, tal como se muestra en la Fig. 2.5.

Fig. 2.5: Cabina de Flujo Laminar

El laboratorio posee los equipos necesarios para la realización de controles de calidad dentro de los que se encuentran:

- Equipo de cromatografía liquida de alta resolución (HPLC), con detectores para hidratos de carbono y de radiación, permite realizar parte del control de calidad del producto terminado y materias primas (Fig. 2.6).

Fig. 2.6: HPLC, FCDN.

- Equipo de cromatografía de gases, para realizar parte del control de calidad del producto terminado y materias primas (Fig. 2.7).

Fig. 2.7: Cromatografo de Gases, FCDN.

- Radiocromatógrafo, para realizar parte del control de calidad del producto terminado. El mismo, cuenta con un detector de yoduro de sodio fijo dispuesto sobre un colimador por el que se desplaza en forma horizontal una Camilla móvil a velocidad constante de 20 mm/min donde es colocada la placa TLC. En la rejilla colimadora es donde se registran los datos del scanner que, en primera instancia, pasa por el sistema de adquisición y, finalmente, son procesados por el soft PeakSimple. (Fig. 2.8).

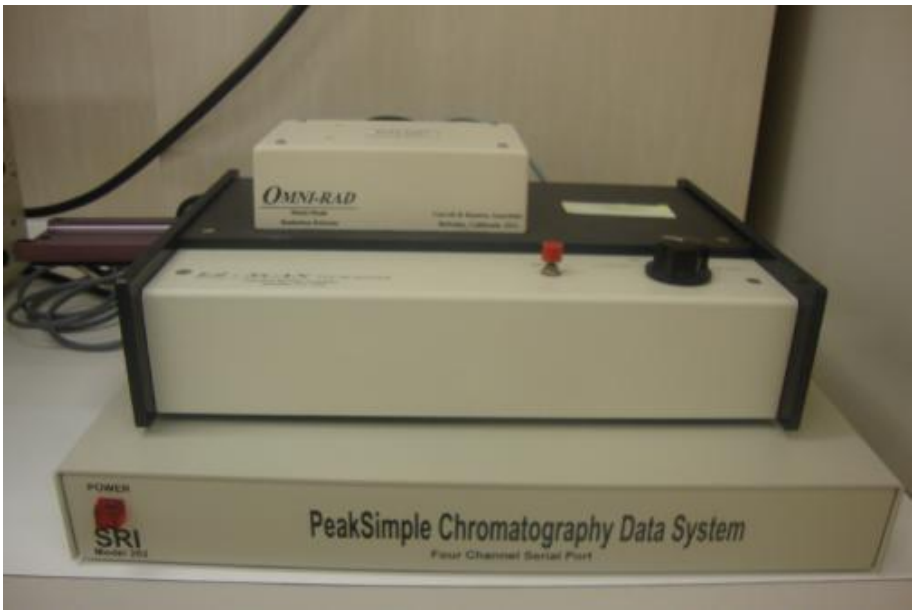

Fig. 2.8: Radiocromatografo, FCDN.

- Sistema de espectrometría gamma: Equipo que permite la medida del espectro gamma de los radiofármacos producidos como parte del control de calidad (Fig. 2.9).

Fig. 2.9: Sistema de Espectrometría Gamma, con Detector de NaI, FCDN.

- Balanza analítica: Para reactivos usados en los controles de calidad.
- Estufas de incubación para medios de cultivo en controles de calidad.

Se debe tener en cuenta que se dispone de un procedimiento normalizado de trabajo para cada equipo donde se describen sus características, la forma de utilizarlo y la periodicidad de su mantenimiento, además todos los equipos son validados para su uso previsto antes de su utilización y los resultados son siempre registrados.

2.2 ASPECTOS BÁSICOS DE PROTECCIÓN RADIOLÓGICA.

Antes de comenzar a describir los aspectos básicos concernientes a la protección radiológica del lugar de trabajo, es importante destacar que la instalación esta licenciada como Clase I por la ARN.

A continuación en la presente sección se describirán los aspectos principales en cuanto a la protección radiológica, que son aplicados en los procesos de producción y control de calidad de los radiofármacos.

En este punto la responsabilidad en cuanto a protección radiológica está estrechamente relacionada con la comprensión y aplicación de las normas del personal que trabaja en la instalación y sus directivos. Teniendo en cuenta lo anterior es necesario que los trabajadores que serán clasificados como ocupacionalmente expuestos estén capacitados y entrenados en el área.

A continuación se mencionarán las normas básicas en cuanto a protección radiológica se refiere dentro de las instalaciones [8]:

- Los trabajadores deben utilicen ropa y calzado adecuado (es necesario cubrir el cabello y utilizar guantes según la tarea a realizar).
- La manipulación de las sustancias radiactivas se debe realizar bajo cabinas de flujo laminar con vidrios plomados, contenedores o dentro de las celdas de producción según la tarea a realizar y la actividad a manipular.
- Utilizar contenedores blindados para el traslado de material radiactivo.
- Se debe evitar manipular los viales directamente con las manos, para lo cual se deben utilizar pinzas o manipular el producto directamente en el contenedor plomado.
- No tocar ningún objeto de la sala con los guantes con los que hemos manejado el material radiactivo a menos que estemos seguros de que están limpios, a fin de evitar su contaminación accidental e igualmente no tocar nunca nada sin guantes en el interior de la cámara caliente por el riesgo existente de contaminación.
- Realizar siempre que exista probabilidad de derrame o salpicaduras el trabajo en bateas de plástico, acero inoxidable y cubiertas con papel de filtro.

Los residuos radiactivos generados serán segregados y depositados en los recipientes preparados para este uso. En la Fig. 2.10 se muestra un contenedor típico diseñado para almacenar desechos radiactivos generados en un laboratorio de Producción de radiofármacos PET.

Fig. 2.10: Contenedor Temporal de Residuos

Al finalizar la manipulación el personal debe realizar un control de contaminación de las superficies de trabajo con un equipo adecuado y una medición de contaminación personal y en caso de incidentes con material radiactivo se debe comunicar inmediatamente al responsable de protección radiológica de la instalación para proceder de forma indicada.

Además de lo anterior se debe establecer una vigilancia radiológica la cual está referida al monitoreo tanto de la instalación como de los trabajadores, para esto es necesario elaborar en cada instalación un plan de monitoreo en el cual se definen los puntos a monitorear en la instalación, la frecuencia de monitoreo y los niveles de referencia.

El monitoreo, puede ser realizado con cámaras de ionización, detectores proporcionales, Geiger y detectores de estado sólido. Cada uno de ellos presenta unas características que le hacen ser más adecuado para una tarea específica, por lo que es importante conocer qué detector utilizar para medir los campos de radiación ó contaminación, lo que implica capacitación de personal en protección radiológica.

Además es necesario proveer a todo el personal ocupacionalmente expuesto de equipos para dosimetría personal, según la tarea que realizan; para el caso en que el trabajador exponga directamente sus manos se deben asignar dosímetros de anillo o de muñeca (tipo reloj), en la Fig. 2.11 se observan los equipos de dosimetría personal comúnmente usados.

Fig. 2.11: Dosímetros Personales

CAPITULO III: PARTE EXPERIMENTAL

Desarrollo Experimental de la Síntesis de Citrato de ^{68}Ga

3.1 CONOCIMIENTOS PREVIOS SOBRE EL GENERADOR $^{68}Ge/^{68}Ga$

El galio ha sido utilizado en el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas cáncer e infecciones. El ^{68}Ga, decae un 89% por emisión de positrones (β^+) y 11% por captura electrónica (CE), corto $T_{1/2}$ de 67,71 min y es obtenido por decaimiento del Germanio-68 (^{68}Ge) lo que permite producirlo a través de un sistema generador $^{68}Ge/Ga^{68}$ el que fue ya desarrollado durante la década del 70. El ^{68}Ge que es el radioisótopo padre tiene un $T_{1/2}$ largo 270,8 días, es producido por ciclotrón usando como blanco el oxido gálico (Ga_2O_3) por reacción (p,2n) sobre ^{69}Ga, decae por CE (Fig. 3.1), y puede ser fuertemente absorbido a diferentes soportes sólidos tales como óxidos metálicos (Ej.: Ti o Sn) o a resinas orgánicas (pirogalol-formaldehído). Su largo periodo de semidesintegracion permite que el generador tenga una vida útil de 12 meses aproximadamente, dependiendo de la frecuencia de uso, puede ser producido rutinariamente y distribuido fácilmente. La gran diferencia entre los periodos de semidesintegración del padre y del hijo hace posible conseguir el equilibrio secular, así en 4 horas aproximadamente se alcanza el 85% de la actividad total, lo que hace al generador operativamente apto para una nueva marcación y por ende es posible poder eluirlo múltiples veces durante la jornada de trabajo. Por lo tanto disponer del generador de $^{68}Ge/Ga^{68}$ en el laboratorio de radiofarmacia implica considerables ventajas al poder acceder a la preparación de radiofármacos emisores PET independientemente de la disponibilidad de un ciclotrón [9].

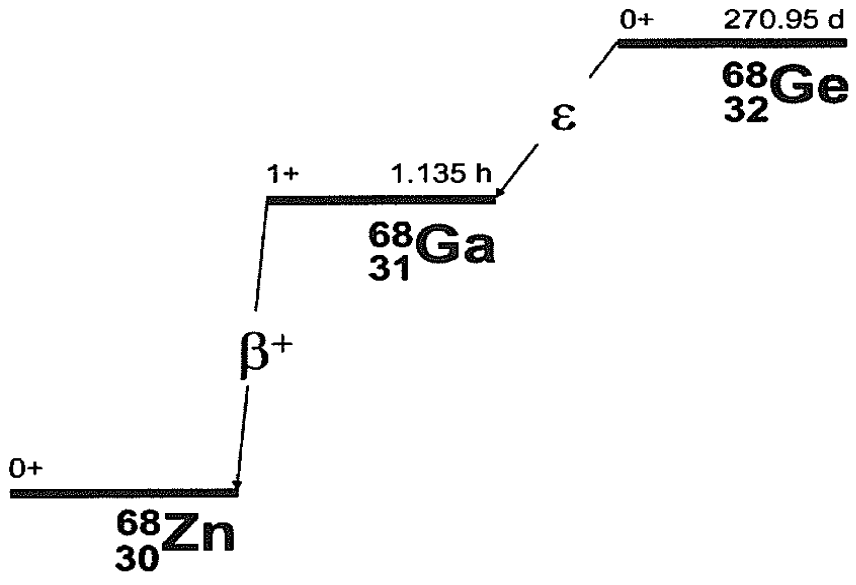

Fig. 3.1: Esquema de Desintegración del (^{68}Ge)

El generador de $^{68}Ge/Ga^{68}$ utilizado en este trabajo es del tipo Eckert & Ziegler (Fig. 3.2), el cual cuenta con una columna de retención, a base de TiO_2, reteniendo así al ^{68}Ge y permitiendo eluir al ^{68}Ga con HCl de concentración 0,1N a través de una bomba peristáltica situado debajo del generador (Fig. 3.3).

Fig. 3.2: Generador de ^{68}Ga

Fig. 3.3: Bomba Peristáltica

Es importante resaltar que el conjunto bomba peristáltica-generador se encuentran dentro de una celda marca COMECER blindada en la que también se encuentra el modulo de síntesis que posteriormente se desarrollara sobre él en capítulos siguientes.

3.2 CARACTERIZACIÓN DEL GENERADOR $^{68}Ge/^{68}Ga$

Lo primero a realizar fueron los controles de calidad del sistema generador $^{68}Ge/^{68}Ga$ para luego así poder hacer la eluciones correspondientes a las marcaciones de interés. Inicialmente se procedió a realizar un estudio del perfil del generador (Fig. 3.4) en cuestión con la finalidad de observar como varia la actividad del eluído, en este caso ^{68}Ga, en relación al volumen de elución. De esta manera se hicieron 5 eluciones consecutivas de 1 mL cada una de ellas y se procedió a medir su actividad (Tabla 3.1).

A (mCi)	V (mL)
0	0
10,57	1
21,1	2
3,46	3
1,03	4
0,84	5

Tabla 3.1: Fracciones de la Elución

Los resultados indican que la segunda y tercera fracción de la elución del generador, contienen más del 80% de la actividad total del eluído con lo cual es un dato sumamente importante a tener en cuenta para luego hacer las marcaciones en los precursores de interés; por otra parte, es necesario descartar el primer eluído en el proceso de síntesis de los radiofármacos ya que por su baja actividad implica una marcación que posteriormente cuando se realice el diagnostico PET, el mismo va arrojar una mala resolución en la imagen.

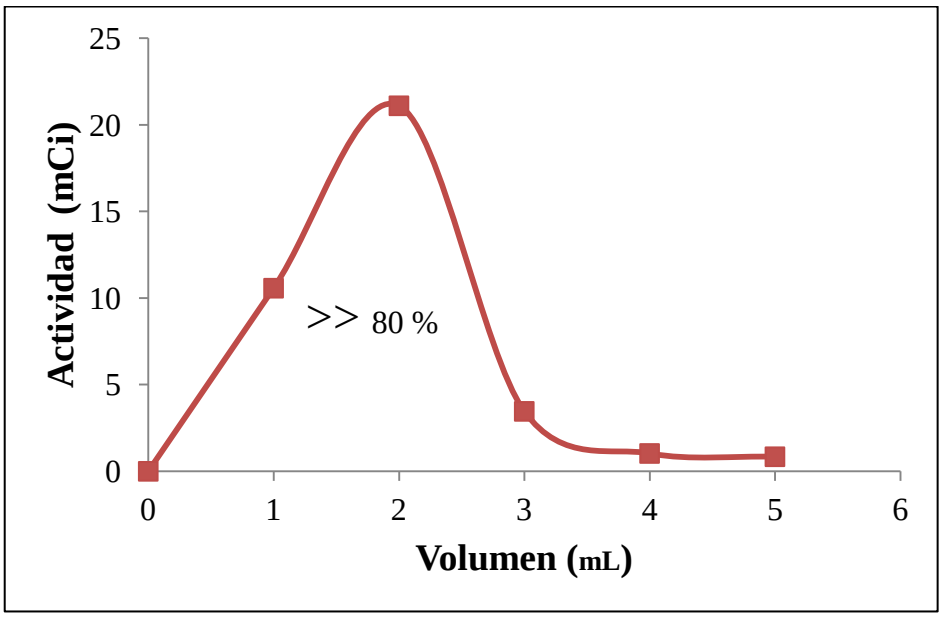

Fig. 3.4: Perfil de Elución del Generador

Una vez realizado el perfil de elución del generador se procedió con los siguientes controles de calidad:

- Inspección visual: referente a la apariencia visual del eluído, incluyendo partículas en suspensión y color. Este ensayo debe realizarse a través de un vidrio plomado.

- Análisis de pH: Se realiza la determinación de pH de la solución con papel indicador extrayendo una pequeña cantidad con una micro-jeringa. Como las eluciones se realizan con HCl 0,1 N, se espera que el pH resulte menor a 2,0.

- Pureza radioquímica: Se refiere a la fracción porcentual de actividad del radionucleido presente en el eluído en la forma química declarada en relación a la actividad total de ese radionucleido. Para calcularla es necesario separar las diferentes especies químicas que contienen el radionucleido de interés para poder estimar el porcentaje de actividad asociada a la forma química del radiofármaco. Para calcular dicha pureza se analiza al eluído en cromatografía en capa fina (TLC); las posiciones en que se encuentra la actividad y su intensidad se determinan por autoradiografia y por determinación de los pulsos por segundo a lo largo de toda la corrida, mediante un radiocromatografo mono o bimensional con accesorios apropiados. De esta manera se desea obtener una concentración del catión gálico (Ga^{+3}) mayor al 95% y una concentración de impurezas menor al 5%

- Pureza radionucleídica: el método más ampliamente utilizado es la espectrometría gamma, aunque no es un método completamente fiable por varios motivos. En primer lugar, es difícil detectar impurezas emisoras de partículas alfa o beta; en segundo lugar, cuando se emplean detectores de yoduro sódico no es posible identificar con claridad los picos correspondientes a impurezas emisoras gamma sobre el espectro del radionucleido principal; y finalmente, los espectros gamma de muchos emisores de positrones son indistinguibles con el equipamiento utilizado habitualmente, ya que únicamente se identifica un pico principal a 511 keV y en ocasiones un pico secundario a 1.022 keV en función de la geometría del detector (debido al efecto suma). Es bueno aclarar que a pesar de esto para analizar los productos de ^{68}Ga la técnica es indicada.

- Test de endotoxinas bacterianas: La determinación de endotoxinas se pueden realizar con diferentes procedimientos dentro de ellos están: el método cinético cromogénico, el método cinético turbidimétrico, el cromogénico de punto final y el más utilizado en los laboratorios PET el método de gel en tubo (LAL). Se desea obtener un valor menor al 29 E.U/mL (unidad de endotoxinas por volumen).

- Ensayo de esterilidad: El test de esterilidad verifica la ausencia de microorganismos ya sea bacterias, hongos o levaduras dentro de radiofármaco. Esta determinación se lleva a cabo por cultivo, lo que implica tener que inyectar el radiofármaco antes de tener el resultado. Por eso es tan importante trabajar con las normas de higiene y control adecuadas.

3.3 SINTESIS DEL ^{68}Ga-CITRATO

Luego de realizado los controles de calidad al generador es posible hacer las posteriores eluciones para marcar a un precursor de interés, en este caso al precursor citrato.

3.3.1 Procedimiento de la Síntesis del ^{68}Ga- Citrato

Lo primero a realizar fue la preparación de un vial que contenía 2 mL de una solución de citrato de sodio de concentración 0,17 M, el cual va a funcionar como buffer también (pH=4,5); Por otro lado también se preparó 2 soluciones en jeringas de 2 mL de HCl (concentrado y 5,5 N, respectivamente) que van a ser usados en el modulo de síntesis automatizado. La preparación de todas las soluciones se realizan en una cabina de flujo laminar (Fig. 3.5).

Fig. 3.5: Cabina de Flujo

Una vez preparadas las soluciones correspondientes, se las coloca en el modulo de síntesis automatizado marca Scintomics (Fig. 3.6) ya que ahí es donde ocurre la marcación, así tanto las jeringas con las distintas concentraciones de HCl y el vial que contiene al citrato de sodio ocupan lugares específicos en el modulo; éste último se conecta a una computadora en la que gracias a un software se inicia el proceso de síntesis del radiofármaco. Es necesario recordar que este proceso de marcación que se realiza en el modulo está situado en el interior de la celda auto blindada en donde

también se encuentra el generador $^{68}Ge/^{68}Ga$ y la bomba peristáltica gracias a la cual se realizan las eluciones (Fig. 3.7).

Fig. 3.6: Modulo de Síntesis

Fig.3.7: Modulo de Síntesis, Generador y Bomba Peristáltica

El proceso de síntesis demora 20 minutos aproximadamente y consiste en las siguientes etapas:

1) Una primera elución (1 mL) que se descarta en un recipiente colector ubicado cerca del generador; posteriormente una segunda elución (2 mL) se colecta en vial donde se va extraer el eluído.
2) El eluído se hace acidificar con HCl (c) para formar el complejo $[^{68}GaCl_4]^-$
3) La solución obtenida de la etapa anterior que contiene al complejo de galio se la hace pasar por un cartucho que contiene una resina de intercambio aniónica (extracción en fase solida aniónica OH^-), la cual me permite retener al complejo $[GaCl_4]^-$ y concentrar de este modo al galio en dicha resina.
4) Se lava la columna con HCl 5,5 N para eliminar todas las impurezas catiónicas.
5) Una vez retenido el complejo $[^{68}GaCl_4]^-$ en la resina de intercambio aniónica, se procede a eluir con agua (H_2O) provocando así un aumento del pH de la resina que conduce a romper la unión del complejo y liberar al $^{68}Ga^{+3}$ en la elución con

agua y colectarse la misma en el vial que contiene la solución con el citrato de sodio 0,17 M.

6) En el vial de colección se forma el complejo ^{68}Ga-citrato (Fig. 3.8), en este complejo el anión citrato se une al galio manteniéndolo quelado en su estructura química y de esta forma poder ser inyectado al organismo hasta llegar a sitios específicos como la transferrina. Además el quelante citrato hace que este elemento químico conserve su estado de oxidación +3, el cual como hemos mencionado en la introducción de este trabajo final, por similitudes con el radio catiónico del Fe^{+3} se comporte y asimile como esté último dentro del organismo.

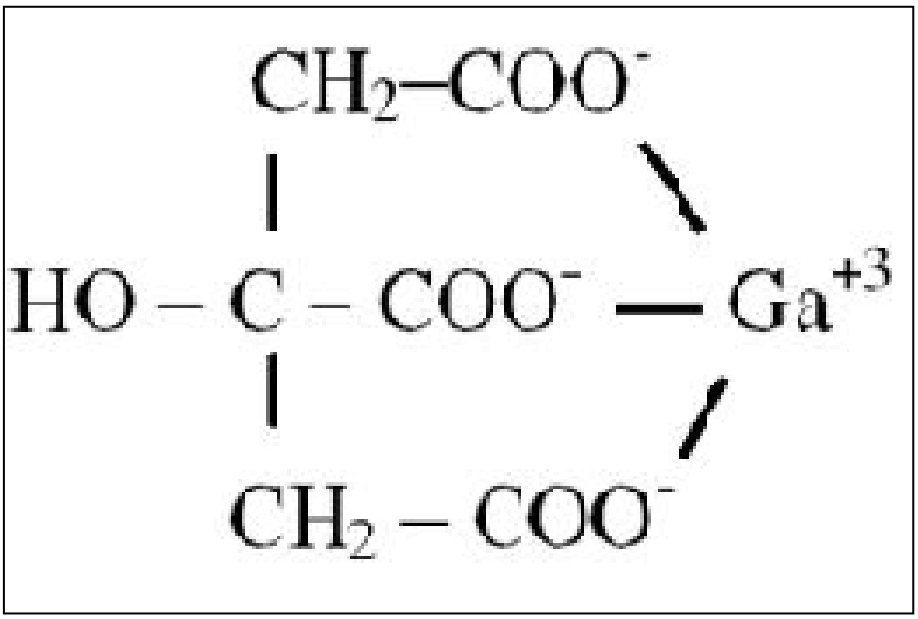

Fig. 3.8: Estructura Química del Citrato de Galio

3.3.2 Controles de Calidad del ^{68}Ga- Citrato

Una vez obtenido el complejo ^{68}Ga-citrato se procede a tomar una alícuota y efectuar los controles de calidad del mismo necesarios para la aprobación del radiofármaco y así poder ser utilizado en la técnica PET.

- Apariencia: Se observa la apariencia a través de un vidrio plomado, esta no debe evidenciar sólidos en suspensión.

- Pureza radioquímica: Se evalúa mediante ITLC-SG (Instant Thin Layer Chromatography – Silica Gel). Se siembra y se la hace correr con metanol:

acetato de amonio 1 M; 1: 1 V/V. Bajo estas condiciones el ^{68}Ga- citrato se mueve con el frente del disolvente (fase móvil) mientras que otras formas químicas como el $^{68}GaCl_3$ permanecen en el origen de la siembra de la muestra. El valor para su aprobación debe ser mayor al 96%.

- Pureza química: Es usada para la determinación de $GaCl_3$ y otras impurezas del radiofármaco. El método usado es HPLC y se debe obtener una pureza mayor al 98 %.

- Análisis de pH: Se determina con papel de pH usando una pequeña cantidad depositada con una micro jeringa; el valor debe estar entre 5 y 7.

- Pureza e identidad radionucleídica: Se realizan dos pruebas una por espectrometría gamma usando un detector de ioduro de sodio acoplado a un analizador multicanal, con este equipo se logra tomar un espectro que ayuda a verificar, con la aparición un pico en 511 keV y esporádicamente uno en 1022 keV, la presencia de la emisión de positrones. Otra prueba que se realiza para identificar al radionucleido es la determinación del periodo de semidesintegracion ($T_{1/2}$) mediante el software acoplado a un activimetro con el cual se logra verificar que el emisor de positrones existente en la muestra corresponde a ^{68}Ga ($T_{1/2}$ = 68 min).
- Test de endotoxinas bacterianas: Esta prueba se realiza luego de inyectado el fármaco y para muestras de varios lotes debido al costo del proceso. Se realiza el método de gel en tubo (LAL) y el valor debe estar por debajo de 17,5 E.U/ml (unidad de endotoxinas por mililitro).
- Ensayo de esterilidad: Debido al tiempo que requiere para la realización de este test, el lote puede ser liberado sin este parámetro, y el ensayo se realiza en un laboratorio especializado.

CAPITULO IV

Consideraciones Generales

Finalmente resta hacer algunos comentarios generales de lo que se ha expuesto en este trabajo y otras cosas que quedarían pendientes desarrollar a futuro.

4.1 Conclusiones Finales

La gran disponibilidad de sistemas generadores $^{68}Ge/^{68}Ga$ y sus diferentes tipos, ha sido la base del desarrollo en la radiofarmacia del ^{68}Ga y por ende llevar a cabo la síntesis del complejo ^{68}Ga-citrato. También cabe destacar las ventajas fundamentales de la utilización de módulos de síntesis automatizados como el utilizado en esté trabajo final, los cuales se caracterizan por su reproducibilidad mejorada, mayor rendimiento, un manejo más fácil, robustez, mejor respuesta a la demanda clínica, y menor tiempo de síntesis [10].

Un párrafo aparte merece atención, y es que el galio posee una química de coordinación muy bien establecida, así es el caso de DOTA, NOTA y demás derivados bifuncionales, los cuales son fáciles de marcar con ^{68}Ga de una manera reproducible y con alto rendimiento en agua o, más frecuentemente, también buffers [10]. Por ejemplo, NOTA y sus derivados tienen la ventaja de ser marcados a temperatura ambiente, mientras que para marcar a DOTA se requieren temperaturas elevadas y tiempos de reacción más largos. No obstante en referencia al presente trabajo, en el caso del complejo ^{68}Ga-citrato, la marcación se logra a temperatura ambiente y no se usan buffers, ya que el mismo precursor actúa como tal.

Finalmente cabe mencionar que en este trabajo de tesina, se logró la marcación efectiva y con rendimiento radioquimico superior al 50% EOS (End of síntesis) y una pureza radioquímica superior al 95% en una síntesis completamente automatizada, sin necesidad de pasos previos a la marcación y sin agregado de medios de reacción y con una purificación sencilla mediante columnas de extracción solida.

4.2 Perspectivas Futuras

En base al desarrollo experimental y teorico llevado a cabo en este trabajo final como así tambien demás trabajos similares relacionados con los usos del radionucleido ^{68}Ga encontrados en la bibliografia consultada, podemos señalar algunas perserpectivas futuras que se plantean:

- Todo parece apuntar a un mayor desarrollo de modulos sintatizadores de radiofarmacos de ^{68}Ga cuyos tamaños tiendan a la miniaturización tan posible como las condiciones de trabajo lo permitan [10].
- Mejorar algunos inconvenientes de la utilización directa de eluido ^{68}Ga para el marcaje de ciertos precursores como por ejemplo algunas actividades medibles del padre ^{68}Ge de largo $T_{1/2}$, los volumenes considerables de elución, presencia de otros metales que pueden interferir en el marcado (tal como $^{68}Zn^{+2}$ originado del decaimeinto del ^{68}Ga) y la alta concentración de HCl (0,1-1 N).
- El calentamiento por microondas tiende a ser eficaz para acelerar y mejorar la reacción de complejación de ^{68}Ga con quelantes bifuncionales como por ejemplo DOTA y NOTA aumentando así la actividad específica, esto aún no se ha probado en el marcaje del precursor citrato todavía, sin embargo ese sería el próximo objetivo según sostienen diversos investigadores en el tema [10].
- Hay ensayos que probaron diseñar un generador de $^{68}Ge/^{68}Ga$ que permita la elución con HF de concentración 0,01 N, ya que según se indican se logra las separaciones de alta eficiencia debido a la diferencia significativa en los coeficientes de distribución de germanio (IV) y galio (III) bajo las especies de complejos fluorados y podrían utilizarse con éxito en el entorno clínico. Sin

embargo, parecía ser bastante complicado debido a que presenta cantidades significativas de HF en el eluído. Este inconveniente sin lugar a dudas es una situación a mejorar [11].

- Finalmente y como perspectiva futura sobresaliente de este trabajo final debo mencionar que el objetivo principal a lograr en el corto plazo es la utilización del radiofármaco ^{68}Ga-citrato en los pacientes que hagan sus estudios médicos referentes a la PET, dentro de la FCDN principalmente como así también en otros centros médicos donde se desarrolle la medicina nuclear y cuenten con la disponibilidad del generador ^{68}Ge/^{68}Ga.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- HABASHI, F.; "*Handbook of Extractive Metallurgy*", Vol. 3. Editorial Willey-Vch, Germany, (1997).

2- TÚNEZ F. M. Tesis Doctoral; "*Estudio Cinético-Químico de la Cloración de Arseniuros de Galio e Indio"*. Universidad Nacional de San Luis, Argentina (2009).

3- CRC. *"Handbook of Chemistry and Physics"*, Editor in Chief David R. Lide; 87th Edition, CRC Press Inc., Florida, (2006-2007).

4- COSTA R. F.; Tesis Doctoral "*Métodos Para la Purificación de Galio-67 y Galio-68 a Desarrollar Para el Marcado de Biomoléculas"*. Sao Pablo (Brasil), (2012).

5- ALAZRAKI, N. P.; SHUMATE, M.J. y KOOBY, D.A. *"A Clinician's Guide to Nuclear Oncology"*. Practical Molecular Imaging and Radionuclide Therapies. Society of Nuclear Medicine, Pag. 52-58. EE.UU (2007).

6- LÓPEZ A., PÉREZ IRUELA J.A., COTRINA MONROY P., EMBUENA GÓMEZ A.; "*Generadores de Isótopos Emisores de Positrones de Aplicación Biomédica"*, Radiobiología 10 211-219, Madrid (España). (2010).

7- http://www.fcdn.org.ar/

8- PARADA ACOSTA J. C.Tesina de Posgrado; "*Análisis de la Producción y Controles de Calidad Aplicados a los Fármacos de* ^{18}F. Instituto Dan Beninson, Argentina. Diciembre (2011).

9- VERDERA E. S., GOMEZ DE CASTIGLIA S.; "*Avances en Radiofarmacia*", Asociación Latinoamericana de Sociedades de Biología y Medicina Nuclear, Noviembre (2009).

10- BOSCHI Stefano, MALIZIA Claudio; "*Overview and Perspectives on Automation Strategies in* ^{68}Ga *Radiopharmaceutical Preparations*". Springer-Verlag, Berlin (Alemania). (2013).

11- ZHERNOSEKOV P. Konstantin and ROSCH Frank; "*Processing of Generator-Produced* ^{68}Ga *for Medical Application*" The Journal of Nuclear Medicine, Vol. 48(N°10). October (2007).

ANEXO

Protocolo de aprobación del generador de $^{68}Ge/^{68}Ga$

Denominación: _____ _____ NdA: _____

Proveedor: _____ Lote: _____

Fecha de Ingreso: ____/____/____ Fecha de Vencimiento: ____/____/____

Actividad Recibida: _____ Fecha/Hora: _____

Fecha de Análisis/muestreo: ____/____/____

PON	Análisis		Especificación	Resultados			Realizó
				Valor	C	NC	
PON342	Apariencia		Solución incolora, transparente libre de impurezas				
PON341	pH		< 2.0				
PON390	Pureza e Identidad Radioquímica	Ga^{3+}	> 95.0%				
		Impurezas Radioquímicas	< 5.0 %				
PON344 PON390	Pureza e Identidad Radionucleídica	Espectro	CORRRESPONDE (un pico principal a 511 kev y picos de dispersión Compton, pudiendo haber otro a 1022 kev)				
		Período de Semidesintegración	62 - 74 minutos				
		Determinación de Germanio	<0.01%				
PON349	Endotoxinas Bacterianas		< 29 E.U./ml.				
PON350	Ensayo de Esterilidad		CORRESPONDE (sin desarrollo)				

C : Corresponde con la especificación
NC: No corresponde con la especificación

Cantidad de hojas Anexas:…...

Observaciones:

Aprobado: ☐ Rechazado: ☐	Firma C.C.: _____ Fecha: _____ Firma D.T.: _____ Fecha: _____

Determinación de ^{68}Germanio

Eluído de ^{68}Ga

Mediciones

Fecha	Hora	Act. eluído (mCi)	Act. Teórica	% Efic.	Vol muestra	Actividad Ga muestra (mCi)	Hora	Act. Ge (nCi)	Fecha	Hora	%Ge	Operador

Criterio de aceptación: El porcentaje máximo permitido de ^{68}Ge y otras impurezas es del 0,01%

Aprobó: